

RESISTENSI ANTIBIOTIK DAN DETEKSI GEN PENGODE *METHICILLIN RESISTANT Staphylococcus aureus* (MRSA) ISOLAT BROILER DI WILAYAH YOGYAKARTA

Resistance of Antibiotics and Detection of Gene Encoding Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Isolated from Broiler in Yogyakarta

Khusnan¹, Dwi Kusmanto¹, dan Mitra Slipranata²

¹Akademi Peternakan Brahmputra, Yogyakarta

²Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
E-mail: drh_khusnan@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan menentukan resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap berbagai antibiotik dan deteksi gen yang bertanggungjawab terhadap *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) pada broiler. Dalam penelitian ini digunakan 23 isolat *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari broiler sakit yang dipelihara di wilayah Yogyakarta. Identifikasi secara genotipik dilakukan berdasarkan gen *nuc* dan 23SrRNA. Uji resistensi terhadap berbagai jenis antibiotik menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* telah resisten terhadap penisilin 78% (18/23), doksisisiklin 56% (15/23), gentamisin 26% (6/23), tetrasiklin 22% (5/23), eritromisin 13% (3/23), dan metisilin 9% (2/23). Hasil deteksi terhadap gen yang bertanggungjawab terhadap MRSA pada 23 isolat *S. aureus* menunjukkan 8 (34,8%) isolat terdeteksi adanya gen *mecA*.

Kata kunci: *Staphylococcus aureus*, broiler, resisten, metisilin, *mecA*

ABSTRACT

The aims of the research were to evaluate resistance of *Staphylococcus aureus* against several antibiotics and to detect the gene encoding of *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) in broiler. Twenty three *Staphylococcus aureus* isolated from infected broiler in Yogyakarta were used. Genotypic identifications were done based on the occurrence of gene *nuc* and 23SrRNA. The resistance assay to several antibiotics revealed that *Staphylococcus aureus* were resistant to penicillin 78% (18/23), doxycycline 56% (15/23), gentamicin 26% (6/23), tetracycline 22% (5/23), erythromycin 13% (3/23), and methicillin 9% (2/23). Detection of gene encoding MRSA on 23 isolates of *S. aureus* showed that 8 (34.8%) isolates contain gene *mecA*.

Key words: *Staphylococcus aureus*, broiler, resistant, methicillin, *mecA*

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) merupakan bakteri patogen penyebab berbagai infeksi pada manusia dan hewan (Khan *et al.*, 2013; Gu *et al.*, 2013). Pada industri perunggasan *S. aureus* merupakan salah satu bakteri yang penting sebagai penyebab penyakit infeksius (Raji *et al.*, 2003). *Staphylococcus aureus* pada ayam menyebabkan *tenosynovitis*, *omphalitis*, dan *bumblefoot* (Suleiman *et al.*, 2013), *staphylococcal septicaemia*, *bumblefoot*, *dermatitis*, *arthritis*, *sinovitis*, dan *osteomyelitis* atau *tenosynovitis*, infeksi bursa suprasternalis, *omphalitis*, peritonitis, dan konjungtivitis (McNamee *et al.*, 2000; Lowder *et al.*, 2000; Jenson dan Miller, 2001; Mohan *et al.*, 2002).

Infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* pada broiler secara umum menyebabkan kerugian ekonomi yang cukup signifikan, sebagai akibat morbiditas tinggi, menghambat pertumbuhan dan adanya peningkatan biaya pengobatan (Rasheed, 2011). Antibiotik dalam produksi broiler digunakan dalam pakan untuk mencegah penyakit dan meningkatkan kinerja maupun untuk pengobatan penyakit infeksi bakteri (Chaslus-Dancla *et al.*, 2000; Lopes *et al.*, 2012; Yurdakul *et al.*, 2013).

Pada pemeliharaan broiler, antibiotik sering diberikan dalam waktu yang lama dengan dosis rendah untuk pencegahan penyakit bakterial dan untuk memacu pertumbuhan (Jackson *et al.*, 2004). Penggunaan

antibiotik pada ternak telah berakibat terjadi peningkatan resistensi terhadap bakteri patogen maupun bakteri penyebab zoonosis seperti infeksi *S. aureus*. Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dengan prinsip-prinsip penggunaan antibiotik akan memberi kontribusi terhadap meningkatnya resistensi antibiotik (Aarestrup *et al.*, 2000; White *et al.*, 2003). Penggunaan antibiotika yang berlebihan dan cara pemberian yang tidak benar pada ternak menyebabkan peningkatan resistensi antibiotik (de Boer *et al.*, 2009; Kasimoglu-Dogru *et al.*, 2010). Penggunaan antibiotik secara terus menerus dalam pakan ternak dapat menyebabkan bakteri patogen resistensi terhadap antibiotik (Robredo *et al.*, 2000; Lange dan Brokking, 2005).

Resistensi isolat *S. aureus* terhadap antibiotik telah banyak dilaporkan (Tenover dan Goering, 2009). *Staphylococcus aureus* isolat asal broiler dilaporkan telah resisten terhadap beberapa jenis antibiotik (Suleiman *et al.*, 2013), sehingga pengobatan infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* semakin sulit karena munculnya *strain resistant multidrug* seperti *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Hennekinne *et al.*, 2010; Kenar *et al.*, 2012). Laporan baru tentang isolat MRSA yang berhasil diisolasi dari hewan, daging, serta penjaga peternakan telah menimbulkan kekhawatiran tentang potensi timbulnya zoonosis akibat MRSA (Nnachi *et al.*, 2014). Dalam penelitian ini dikaji resistensi *S. aureus* terhadap beberapa jenis

antibiotik yang biasa digunakan dalam peternakan broiler dan deteksi gen yang bertanggung jawab terhadap resistensi metisilin (gen *mecA*) dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR).

MATERI DAN METODE

Isolat *Staphylococcus aureus*

Isolat *S. aureus* yang digunakan pada penelitian ini berasal dari broiler yang dipelihara di wilayah Yogyakarta. Spesimen-spesimen yang digunakan sebagai bahan isolasi dan identifikasi *S. aureus* berasal dari kasus sindrom kepala bengkak dan *bumblefoot*. Pada penelitian ini digunakan 23 isolat yang telah diidentifikasi sebagai *S. aureus* pada penelitian sebelumnya berdasarkan pertumbuhan pada media *mannitol salt agar* (MSA), uji koagulase, *clumping factor*, uji katalase, dan uji *voges proskauer* (VP) (Khusnan dan Kusmanto, 2013).

Uji Resistensi Antibiotik

Uji kepekaan *S. aureus* terhadap berbagai antibiotik digunakan metode *disc diffusion* dengan menempelkan lempeng (*disc*) yang mengandung antibiotik pada Müller-Hinton agar (MHA, Oxoid), sesuai dengan metode yang dilakukan Yurdakul *et al.* (2013). Lempeng (*disc*) yang mengandung metisilin, penisilin, tetrasiklin, doksisisiklin, eritromisin dan gentamisin (Oxoid) ditempelkan pada agar Müller-Hinton yang telah ditanam isolat *S. aureus*. Zona inhibisi yang terbentuk di sekeliling cakram setelah diinkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam, diukur diameternya sesuai dengan ketentuan CLSI (2007).

Ekstraksi DNA dan Identifikasi Molekuler (Gen 23SrRNA dan Gen *Nuc*)

Ekstraksi DNA dari isolat *S. aureus* dengan menggunakan *Qiamp tissue kit* (Qiagen, Hilden, Jerman) sesuai prosedur yang telah ditentukan oleh pabrik. Bakteri ditanam pada plat agar darah selama 24 jam pada suhu 37° C, kemudian diambil 5-10 koloni bakteri disuspensikan dalam bufer TE (1,8 U/μl; Sigma: 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA pH 8, yang mengandung 5 μl *lysozaphin*). Setelah inkubasi selama 30 menit pada suhu 37° C, ditambahkan 25 μl proteinase K (14,8 mg/ml; Sigma) dan 200 μl bufer AL (yang berisi reagen AL1 and AL2). Suspensi bakteri diinkubasi selama 3 menit pada suhu 70° C dan selama 10 menit pada suhu 95° C, kemudian setelah disentrifugasi beberapa detik sebanyak 420 μl etanol ditambahkan ke dalam masing-masing sampel dan ditempatkan ke dalam kolom *QIAamp*. Setelah sentrifugasi selama 1 menit kolom *QIAamp* ditempatkan di atas tabung koleksi dan sampel dicuci dua kali dengan 500 μl bufer AW (Qiagen). Kolom *QIAamp* kemudian disentrifugasi selama 3 menit, kolom kemudian ditempatkan di atas 2 ml tabung eppendorf dan DNA yang ada pada kolom dicuci dua kali dengan cara elusi dengan 200 μl bufer AE. Hasil elusi sampel DNA dapat disimpan pada suhu -20° C (Salasia *et al.*, 2004). Amplifikasi terhadap gen *nuc* dan 23SrRNA untuk identifikasi spesies spesifik digunakan teknik *polymerase chain reaction*

(PCR) dengan primer untuk gen 23SrRNA: 5'AGC GAG TTA CAA AGG AGG AC 3' dan 3'AGC TCA GCC TTA ACG AGT AC 5' dan gen *nuc*: 5'GCG ATT GAT GGT GAT ACG GTT 3' dan 3'ACG CAA GCC TTG ACG AAC TAA AGC 5', dengan program PCR sesuai metode Salasia *et al.* (2011).

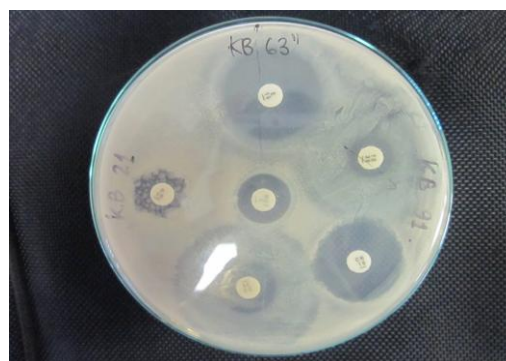
Deteksi Gen Penyandi MRSA (Gen *mecA*)

Amplifikasi gen penyandi *methicillin resistance S. aureus* (*mecA*), dengan PCR dengan menggunakan primer spesifik 5'-AAA ATC GAT GGT AAA GGT TGG C-3' dan 5'-AGT TGT GCA GTA CCG GAT TTG C-3' dengan program PCR 30 × (95° C 60 s, 53° C 30 s, 72° C 45 s), dengan mengacu referensi Al-Ruaily and Khalil (2011). Hasil amplifikasi dianalisis dengan elektroforesis sesuai metode Salasia *et al.* (2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Staphylococcus aureus yang digunakan dalam penelitian ini telah diidentifikasi secara molekular dengan menggunakan target gen *nuc* dan gen 23SrRNA. Keberadaan gen ini dapat digunakan sebagai penanda spesies *S. aureus* secara spesifik (Salasia *et al.*, 2004). *Thermostable nuclease* (Tnase) yang disandi oleh gen *nuc* digunakan sebagai *gold standard* dasar spesifik untuk identifikasi *S. aureus* (Brakstad *et al.*, 1992). Hasil identifikasi ini diketahui bahwa semua isolat positif 23SrRNA dan gen *nuc*.

Dari hasil uji resistensi menunjukkan bahwa telah terjadi resistensi pada 23 isolat *S. aureus* asal broiler terhadap berbagai antibiotik seperti disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1. Resistensi *S. aureus* terhadap metisilin terdapat 2 isolat (8,7%), penisilin 15 isolat (65,2%), tetrasiklin 5 isolat (21,7%), doksisisiklin 14 isolat (60,9%), gentamisin 6 isolat (26,1%), dan eritromisin 4 isolat (17,4%). Beberapa hasil penelitian sebelumnya telah dilaporkan bahwa *S. aureus* isolat broiler telah mengalami peningkatan resistensi terhadap beberapa antibiotik. Resistensi *S. aureus* terhadap penisilin dan tetrasiklin 100%, doksisisiklin sebesar 50% dan gentamisin 70% (Moon *et al.*, 2007). Mamza *et al.* (2010) melaporkan *S. aureus* isolat broiler telah resisten terhadap penisilin sebesar 100% dan eritromisin 83%; klindamisin dan tetrasiklin 50%; metisilin 19,4%; kloramfenikol 18,8%; eritromisin 23,2%; dan tilosin 20,8%.



Gambar 1. Uji resistensi antibiotik terhadap *S. aureus* dengan media Muler Hinton

Tabel 1. Uji resistensi antibiotik terhadap *Staphylococcus aureus* dan amplifikasi gen penyandi nuklease (gen *nuc*), gen 16SrRNA dan gen penyandi MRSA (gen *mecA*)

No	Kode Isolat	Asal spesimen	Resistensi antibiotik*	Gen <i>nuc</i>	Gen 16S rRNA	Gen <i>mecA</i>
1	BFT23	Subkutan cakar	pen, tet, dox	+	+	-
2	BFT24	Subkutan cakar	pen, tet, dox	+	+	-
3	BFT120	Subkutan cakar	pen, dox	+	+	-
4	KB 32	Subkutan kepala	pen, gen	+	+	+
5	KB 62	Sendi rahang kiri	pen, gen	+	+	+
6	KB 63	Sendi rahang kanan	met, pen, dox	+	+	-
7	KB 80	Subkutan kepala	dox, gen, eri	+	+	-
8	KB 81	Sendi rahang kiri	met, pen, dox	+	+	+
9	T11	Mata kanan bagian atas	pen, dox	+	+	-
10	T12	Subkutan kepala	gen	+	+	-
11	T13	Sendi rahang kanan	eri	+	+	-
12	T14	Bawah rahang	pen, dox	+	+	+
13	T15	Mata kanan bagian atas	pen, gen, eri	+	+	+
14	T16	Subkutan kepala	eri	+	+	+
15	T103	Sendi rahang kanan	pen, dox	+	+	-
16	T104	Sendi rahang kiri	pen, dox, tet	+	+	+
17	T105	Subkutan cakar	pen, dox, tet	+	+	-
19	T106	Subkutan cakar	pen, dox, gen	+	+	-
20	T107	Subkutan cakar	pen	+	+	-
21	M1	Subkutan cakar	pen	+	+	-
22	M3	Subkutan cakar	pen, dox	+	+	-
23	M5	Subkutan cakar	dox, tet	+	+	+

*met= Metisilin, pen= Penisilin, eri= Eritromisin, dox= Doxysiklin, eri= Eritromisin, gen= Gentamisin

Staphylococcus aureus isolat broiler telah resisten terhadap tetrasiklin 100%, eritromisin 25%, dan kloramfenikol 25% (Yurdakul *et al.*, 2013). Nemati *et al.* (2008) melaporkan perbandingan hasil penelitian tahun 1972 dan 2006 bahwa *S. aureus* isolat asal broiler telah mengalami peningkatan resistensi terhadap jenis antibiotik yang sering digunakan dalam pemeliharaan broiler yaitu gentamisin (2,2-15%), eritromisin (17-37%), dan tetrasiklin (49-59%). Suleiman *et al.* (2013) melaporkan telah terjadi resistensi *S. aureus* isolat broiler terhadap ampicilin dan eritromisin masing-masing sebesar 100%.

Hasil penelitian-penelitian sebelumnya secara umum bahwa *S. aureus* terjadi peningkatan resistensi terhadap mayoritas antibiotik yang sering dan biasa digunakan pada peternakan broiler (Ma *et al.*, 2002). Beberapa jenis antibiotik yang sering digunakan dalam peternakan broiler diantaranya kelompok aminoglikosida (gentamisin, neomisin, dan streptomisin), kelompok Beta-Laktam, yaitu kelompok penisilin (penisilin, amoksisilin), kelompok tetrasiklin (klortetrasiklin, oksitetrasiklin, tetrasiklin, streptomisin, doksisisiklin, dan ampicilin (Na lampang *et al.*, 2007). Menurut Aarestrup *et al.* (2000) dan White *et al.* (2003), jenis antibiotik yang sering digunakan pada peternakan ayam yaitu eritromisin, tetrasiklin, penisilin, dan doksisisiklin. Sebaliknya antibiotik yang jarang digunakan masih sensitif pada *S. aureus* isolat broiler. Heo *et al.* (2008) dan Yurdakul *et al.* (2013) melaporkan bahwa ciprofloksasin, enrofloksasin, gatifloksasin, nitrofurantoin, quinupristin, dalfoipristin, teicoplanin, dan amikasin masih sensitif (100%) terhadap *S. aureus* isolat asal broiler.

Terjadinya peningkatan resistensi antibiotik terhadap *S. aureus* isolat asal broiler karena penggunaan antibiotik dalam waktu yang lama, baik untuk mengendalikan dan mencegah penyakit bakteri,

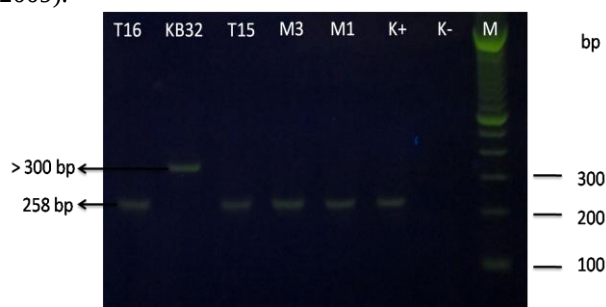
untuk memacu pertumbuhan atau untuk meningkatkan efisiensi pakan (Geornaras dan von Holy, 2001; Nemati *et al.*, 2008). Pada pemeliharaan broiler sering digunakan antibiotik dengan dosis rendah dalam waktu yang lama sebagai pemacu pertumbuhan dan dosis yang ditingkatkan untuk pencegahan penyakit bakteri maupun tujuan pengobatan (Apata, 2011).

Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dengan prinsip-prinsip penggunaan agen antibakteri dapat menyebabkan terjadinya peningkatan resistensi. Peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik merupakan konsekuensi penggunaan antibiotik pada manajemen peternakan (Anonimus, 2001). Beberapa studi telah menunjukkan bahwa penggunaan antibiotik pada pemeliharaan broiler sangat memengaruhi terjadinya resistensi baru terhadap antibiotik, meskipun tingkat dan kecepatan terjadinya resistensi sangat bervariasi. Jenis antibiotik yang sering digunakan dalam pemeliharaan broiler menyebabkan *S. aureus* lebih resisten dibandingkan dengan jenis antibiotik yang jarang digunakan, sebaliknya jenis antibiotik yang jarang digunakan dalam peternakan broiler masih sensitif.

Studi epidemiologi dan molekuler menunjukkan adanya hubungan antara penggunaan antimikrob yang kurang tepat pada peternakan dengan munculnya *strain-strain* bakteri baru yang resisten terhadap antibiotik (van Vuuren, 2001). Terjadinya peningkatan resistensi antibiotik terhadap *S. aureus* yang berasal dari hewan maupun pangan yang berbahan dari hewan harus dipantau terus-menerus untuk mengurangi risiko meningkatnya resistensi bakteri yang ditransfer dari hewan maupun pangan berbahan dari hewan ke manusia (Hiroi *et al.*, 2012). Penelitian Boost *et al.* (2008) menunjukkan *S. aureus* isolat yang berasal dari manusia terjadi resistensi terhadap penisilin sebesar

82%, eritromisin 25%, gentamisin 4%, tetrasiklin 17%, dan oksasiklin 2%.

Pada penelitian ini, gen *mecA* berhasil dideteksi pada *S. aureus* isolat asal broiler yang diteliti yaitu sebesar 8 isolat (34,8%) (Gambar 2). Hasil ini lebih besar dibandingkan dengan hasil penelitian Geenen *et al.* (2013) sebesar 8% dan penelitian de Boer *et al.* (2009) sebesar 16,0 %. Prevalensi resistensi antibiotik terhadap *S. aureus* secara genotipe hasilnya berbeda antara masing-masing Negara (Santos *et al.*, 2000; Witte, 1999). Prevalensi MRSA isolat broiler di Belgia sebesar 13-14% (Nemati *et al.*, 2008), di Belanda 16% (de Boer *et al.*, 2009), di Jerman 25% (Feßler *et al.*, 2011) dan di Taiwan sebesar 87,5% (Jyhshiu *et al.*, 2009).



Gambar 2. Analisis gen *mecA* *Staphylococcus aureus* isolat broiler (isolat kode T16, T15, M3, M1) dengan besar amplikon sekitar 258 bp, dan isolat KB32 dengan besar amplikon sekitar 300 bp

Methicillin resistant Staphylococcus aureus isolat dari ternak telah mendapatkan perhatian khusus (Murphy *et al.*, 1985). Strain MRSA telah terdeteksi pada beberapa spesies hewan dan produk pangan asal hewan (Persoons *et al.*, 2009). Strain MRSA yang diisolasi dari ternak telah dilaporkan terjadi peningkatan (Kwon *et al.*, 2005; Voss *et al.*, 2005; Wulf dan Voss, 2006). Strain MRSA juga telah diisolasi dari daging ayam dan bangkai ayam (Lee, 2003; Kitai *et al.*, 2005; Lee, 2006;), daging kalkun dan ayam pedaging (de Boer *et al.*, 2009).

Pada ternak lain prevalensi MRSA telah banyak diteliti, pada sapi perah (Devriese dan Hommez, 1975), sapi potong (Feßler *et al.*, 2011), dan babi (de Boer *et al.*, 2009). Prevalensi pada sapi perah sebesar 15,2%; sapi potong 10,6%; dan babi 10,7% (de Boer *et al.*, 2009). Pada hewan piara MRSA ditemukan pada kuda dan anjing yang dirawat pada klinik hewan (Hartmann *et al.*, 1997; Seguin *et al.*, 1999), pada anjing, kuda, dan kucing (Middleton *et al.*, 2005). Deteksi gen *mecA* menunjukkan adanya MRSA asal hewan meningkat tajam tahun 2007-2010 (Garcia-Alvarez *et al.*, 2011).

Deteksi gen *mecA* bertujuan memastikan munculnya strain MRSA (Witte, 1999; Santos *et al.*, 2000). Al-Ruaili dan Khalil (2011), melaporkan bahwa teknik molekuler mempunyai akurasi tinggi dalam mendeteksi MRSA waktu yang lebih cepat dibanding cara konvensional. Isolat-isolat MRSA umumnya mengalami peningkatan resistensi terhadap berbagai macam antibiotik (Garcia-Alvarez *et al.*, 2011). Peningkatan resistensi terhadap metisilin biasanya

terjadi peningkatan resistensi terhadap berbagai macam antibiotik yang lain (Na'was *et al.*, 1998; Todar, 2005; Chatterjee dan Otto, 2013).

Penggunaan antibiotik yang tidak benar pada hewan kesayangan maupun ternak memberikan kontribusi terhadap meningkatnya resistensi bakteri (Lee, 2003; Kwon *et al.*, 2005; Kwon *et al.*, 2006). Hal ini menunjukkan potensi untuk transmisi zoonosis (Huijsdens *et al.*, 2006). Hewan dapat bertindak sebagai reservoir dan sumber bagi munculnya MRSA klon pada manusia (Garcia-Alvarez *et al.*, 2011). Strain MRSA ditemukan pada babi yang sehat dan transmisi antara hewan dan manusia telah dilaporkan dan digambarkan oleh Voss *et al.* (2005). Orang-orang berurusan dengan ternak mempunyai risiko tertular oleh MRSA (Cuny *et al.*, 2009; Mulders *et al.*, 2010). Daging unggas dan produknya dianggap sebagai sumber penting penyebaran MRSA pada manusia (Karmi, 2013). Hasil-hasil penelitian menyiratkan bahwa orang yang berhubungan dengan ayam broiler hidup berisiko untuk tertular MRSA sesuai hasil penelitian Geenen *et al.* (2013), bahwa prevalensi MRSA pada broiler sebesar 8% dan pekerja pada peternakan broiler tersebut sebesar 5,5%.

KESIMPULAN

Staphylococcus aureus isolat broiler yang dipelihara di wilayah Yogyakarta memperlihatkan terjadinya resisten terhadap metisilin, penisilin, tetrasiklin, eritromisin, gentamisin, dan doksisisiklin. Secara molekuler terdapat 8 isolat (34,8%) terdeteksi gen penyandi MRSA (gen *mecA*) pada isolat *S. aureus* yang diteliti. Ditemukannya MRSA dan *S. aureus* yang telah resisten terhadap beberapa jenis antibiotik dimungkinkan akan timbulnya multiresisten terhadap *S. aureus* asal broiler yang akan mempersulit penanganan pada kasus infeksi bakteri pada peternakan broiler.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian hasil penelitian yang dibiayai dengan dana Hibah Penelitian Fundamental Tahun Anggaran 2013-2014 dari Ditlitabmas DIKTI melalui pengelolaan Desentralisasi. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia melewati Ditlitabmas Dikti dan kepada semua pihak yang telah membantu hingga selesainya penelitian dan publikasi ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aarestrup, F.M., Y. Agerso, P. Ahrens, J.C.O. Jorgensen, M. Madsen, and L.B. Jensen. 2000. Antimicrobial susceptibility and presence of resistance genes in staphylococci from poultry. *Vet. Microbiol.* 74:353-364.
- Al-Ruaili, M.A., and O.M. Khalil. 2011. Detection of (*mecA*) gene in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) at Prince A/Rhman Sidery Hospital, Al-Jouf, Saudi Arabia. *J. Medical Genetics and Genomics.* 3(3):41-45.

- Anonimus. 2001. **Judicious Use of Antimicrobials for Poultry Producers, American Association of Avian Pathologists Guidelines for Judicious Therapeutic Antimicrobial Use in Poultry**. American Association of Avian Pathologist. New Bolton Center
- Apata, D.F. 2011. The emergence of antibiotics resistance and utilization of probiotics for poultry production. **J. Microbiol.** 12(2):8-13
- Boost, M.V., M.M., O'donoghue, and A. James. 2008. Prevalence of *Staphylococcus aureus* carriage among dogs and their owners. **Epidemiol. Infect.** 136:953-964.
- Brakstad, O.D., K. Aasbak, and J.A. Maeland. 1992. Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the nuc gene. **J. Clin. Microbiol.** 30(7):1654-1660.
- Chaslus-Dancla, E., J.P., Lafont, and J.L. Martel. 2000. Spread of resistance from food animals to man: the French experience. **Acta Vet. Scand.** 9:53-60.
- Chatterjee, S.S. and M. Otto. 2013. Improved understanding of factors driving methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* epidemic waves. **Clinical Epidemiol.** 5:205-217.
- CLSI. 2007. Clinical and Laboratory Standard Institute. **clsi.org**.
- Cuny, C., R. Nathaus, F. Layer, B. Strommenger, D. Altmann, and W. Witte. 2009. Nasal colonization of humans with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) CC398 with and without exposure to pigs. **PLoS One**, 4, e6800.
- De Boer E, J.T., B. Zwartkruis-Nahuis, B. Wit, X.W. Huijsdens, A.J. de Neeling, T. Bosch, R.A. van Oosterom, A. Vila, and A.E. Heuvelink. 2009. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. **Int. J. Food Microbiol.** 134(1-2):52-56.
- Devriese, L.A. and J. Hommez. 1975. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dairy herds. **Res. Vet. Sci.** 19:23-27.
- Garcia-Alvarez L., M.T.G. Holden, H. Lindsay, C.R. Webb, D.F.J. Brown, M.D. Curran, E. Walpole, K. Brooks, D.J. Pickard, C. Teale, J. Parkhill, S.D. Bentley, G.F. Edwards, E.K. Girvan, A.M. Kearns, B. Pichon, R.L.R. Hill, A.R. Larsen, R.L. Skov, S.J. Peacock, D.J. Maskell, and M.A. Holmes. 2011. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel mecA homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: A descriptive study. **Published Online.** (11):70126-70128.
- Geenen, P.L., E.A.M. Graat, A. Haenen, P.D. Hengeveld, W.W. Van Hoek, C.C. Kappert, G.A.C. Lammers, E. Van Duikerken, and A.W. Van De Giessen. 2013. Prevalence of livestock associated MRSA on Dutch broiler farms and in people living and/or working on these farms. **Epidemiol. Infect.** 141:1099-1108.
- Geornaras, I. and A. von Holy. 2001. Antimicrobial susceptibilities of isolates of *Staphylococcus aureus*, *Listeria* species and *Salmonella* serotypes associated with poultry processing. **Int. J. Food Microbiol.** 70:29-35.
- Gu, C.Q., X.Y. Hu, C.Q. Xie, W.P. Zhang, D.H. Wang, Q. Zhou, and G.F. Cheng. 2013. Observation on arthritis in broiler breeder chickens experimentally infected with *Staphylococcus aureus*. **Pak. Vet. J.** 33:195-199.
- Hartmann, F.A., S.S. Trostle, and A.A.O. Klohnen. 1997. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a postoperative wound infection in a horse. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 211:590-592.
- Hennekinne, J.A., A. Ostyn, F. Guillier, S. Herbin, A.L. Pruffer, and S. Dragacci. 2010. How should staphylococcal food poisoning outbreaks be characterized. **Toxins.** 2:2106-2116.
- Heo, H.J., B.K. Ku, D.H. Bae, C.K. Park, and Y.J. Lee. 2008. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from domestic and imported raw meat in Korea. **Korean J. Vet. Res.** 48(1):75-81.
- Hiroi, M., F. Kawamori, T. Harada, Y. Sano, N. Miwa, K. Sugiyama, Y. Hara-Kudo, and T. Masuda. 2012. Antibiotic resistance in bacterial pathogens from retail raw meats and food-producing animals in Japan. **J. Food Protect.** 75(10):1774-1778.
- Huijsdens, XW, B.J. van Dijke, E. Spalburg, M.G. van Santen Verheuevel, G.N. Heck, and G.N. Pluister. 2006. Community-acquired MRSA and pig-farming. **Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.** 10:5-26.
- Jackson, C.R., P.J. Fedorka-Cray, J.B. Barrett, and S.R. Ladely. 2004. Effects of tylosin use on erythromycin resistance in enterococci isolated from swine. **App. Environ. Microbiol.** 70:4205-4210.
- Jenson, E.L. and C.L. Miller. 2001. *Staphylococcus* infections in broiler breeders. **Avia Teck.** 1(1):2
- Jyhshiu, L., Y. Kuang-Sheng, L. Hsueh-Tao, and L. Jiunn-Horng. 2009. *Staphylococcus aureus* isolated from pork and chicken carcasses in Taiwan: Prevalence and antimicrobial susceptibility. **J. Food Protect.** 72(3):608-611.
- Karmi, M., 2013. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in poultry meat in Qena, Egypt **Vet. World.** 6(10):711-719.
- Kasimoglu-Dogru, A., Y.E. Gencay and N.D. Ayaz. 2010. Prevalence and antibiotic resistance profiles of *Enterococcus* species in chicken at slaughter level; absence of *vanA* and *vanB* genes in *E. faecalis* and *E. faecium*. **Res. Vet. Sci.** 89:153-158.
- Kenar, B., Y. Kuyucuoglu, and E. Şeker. 2012. Antibiotic susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine subclinical mastitis in Turkey. **J. Pak. Vet.** 32:390-393.
- Khan, A., R. Hussain, M.T. Javed and F. Mahmood. 2013. Molecular analysis of virulent genes (*coa* and *spa*) of *Staphylococcus aureus* involved in natural cases of bovine mastitis. **J. Pak. Agric. Sci.** 50:739-743.
- Khusnan dan D. Kusmanto. 2013. **Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Isolasi Ayam Pedaging dan Kajian Virulensi pada Sel Hospes secara In Vivo dan In Vitro**. Laporan Penelitian Fundametal DP2M DIKTI Kemeterian Pendidikan dan Kebudayaan
- Kitai, S., A. Shimizu, J. Kawano, E. Sato, and C. Nakano. 2005. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from retail raw chicken meat in Japan. **J. Vet. Med. Sci.** 67:107-110.
- Kwon, N.H., K.T. Park, J.S. Moon, W.K. Jung, S.H. Kim, J.M. Kim, S.K. Hong, H.C. Koo, Y.S. Joo, and Y.H. Park. 2005. Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCCmec) characterization and molecular analysis for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and novel SCCmec subtype IVg isolated from bovine milk in Korea. **J. Antimicrob. Chemother.** 56:624-632.
- Kwon, N.H., K.T. Park, W.K. Jung, H.Y. Youn, Y. Lee, S.H. Kim, W. Bae, L.Y. Lim, J.Y. Kim, J.M. Kim, S.K. Hong, and Y.H. Park. 2006. Characteristics of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat and hospitalized dogs in Korea and their epidemiological relatedness. **Vet. Microbiol.** 117:304-312.
- Lange, D.L. and D.H. Brokking. 2005. Nutribiotics could replace antibiotics in feed. **World Poultry.** 10(21):26-28.
- Lee, J.H. 2006. Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from cattle and chicken, and analyses of their *mecA*, *mecR1*, and *mecI* genes. **Vet. Microbiol.** 114:155-159.
- Lee, J.H. 2003. Methicillin (oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. **Appl. Environ. Microbiol.** 69:6489-6494.
- Lopes, P.R., R.C. Reyes, R. Romero-Gonzalez, A.G. Frenich, and J.L.M. Vidal. 2012. Development and validation of a multiclass method for the determination of veterinary drug residues in chicken by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Talanta.** 89:201-208.
- Lowder, B.V., C.M. Guinane, N.L. Ben Zakour, L.A. Weinert, A. Conway-Morris, R.A. Cartwright, A.J. Simpson, A. Rambaut, U. Nubel, and J.R. Fitzgerald. 2000. Recent human-to-poultry host jump, adaptation, and pandemic spread of *Staphylococcus aureus*. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 106:19545-19550.
- Ma, X.X., T. Ito, C. Tiensasitorn, M. Jamklang, P. Chongtrakool, S. Boyle-Vavra, R.S. Daum, and K. Hiramatsu. 2002. Novel type of staphylococcal cassette chromosome *mec* identified in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. **Antimicrob. Agents Chemother.** 46:1147-1152.
- Mamza, S.A., G.O. Egwu, and D.D. Mshelia. 2010. Antibiotic susceptibility patterns of beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from chickens in Maiduguri (Arid zone), **J. Nigeria Veterinarian Arhiv.** 80(2):283-297.
- McNamee, P.T. and J.A. Smyth. 2000. Bacterial chondronecrosis with osteomyelitis (femoral head necrosis) of broiler chickens: A review. **Avian Pathol.** 29(5):477-495.

- Middleton, J.R., L.L. Timms, G.R. Bader, J. Lakritz, C.D. Luby, and B.J. Steevens. 2005. Effect of prepartum intramammary treatment with pirlimycin hydrochloride on prevalence of early first-lactation mastitis in dairy heifers. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 227:1969-1974.
- Mohan, K., L.C. Shroeder-Tucker, D. Karenga, F. Dziva, A. Harrison, and P. Muvavarirwa. 2002. Un-identified Coryne form Bacterial strain from cases of polyarthritis in chickens: phenotype and fatty acid profile. **Avian Dis.** 46:1051-1054.
- Moon, J.S., A.R. Lee, J.S. Jaw, H.M. Kang, Y.S. Joo, Y.H. Park and H.C. Kim. 2007. Comparison of Antibigram, Staphylococcal Enterotoxin Productivity, and Coagulase Genotypes among *Staphylococcus aureus* Isolated from Animal and Vegetable Sources in Korea. **J. Food Protect.** 70(11):2541-2548.
- Mulders, M.N., P. Haenen, P.L. Geenen, P.C. Vesseur, E.S. Poldervaart, T. Bosch, X.W. Huijsdens, P.D. Hengeveld, W.D. Dam-Deisz, E.A. Graat, D.A. Mevius, A. Voss and A.W. van De Giessen. 2010. Prevalence of livestock-associated MRSA in broiler flocks and risk factors for slaughter house personnel in The Netherlands. **Epidemiol. Infect.** 138:743-755.
- Murphy, E., L. Huwyler, and M.C.F. Bastos. 1985. Transposon Tn554: complete nucleotide sequence and isolation of transposition-defective and antibiotic-sensitive mutants. **EMBO J.** 4:3357-3365.
- Na lampang, K., V. Chongsuvivatwong and V. Kitikoon. 2007. Pattern and determinant of antibiotics used on broiler farms in Songkhla Province, Southern Thailand. **Trop. Anim. Health Prod.** 39:355-361.
- Na'was, T., A. Hawwari, E. Hendrix, J. Hebden, R. Edelman, M. Martin, W. Campbell, R. Naso, R. Schwalbe, and A.I. Fattom. 1998. Phenotypic and genotypic characterization of nosocomial *Staphylococcus aureus* isolates from trauma patients. **J. Clin. Microbiol.** 36(2):414-420.
- Nemati, M., K. Hermans, U. Lipinska, O. Denis, A. Deplano, M. Struelens, L.A. Devriese, F.F. Pasmans, and F. Haesebrouck. 2008. Antimicrobial resistance of old and recent *Staphylococcus aureus* isolates from poultry: First detection of livestock-associated methicillin-resistant strain ST398. **Antimicrobiol. Agents Chemotherapy.** 52(10):3817-3819.
- Nnachi, A.U., F.E. Emele, C.O. Ukaegbu, M.V. Agah, O.E. Udu-Ibiam, O.S. Chukwu, and M.A. Mmaduabuchi. 2014. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in raw meat and meat handlers in Onitsha, Nigeria. **European J. Prev. Med.** 2(1): 9-15.
- Raji, M.A., J.O. Adekeye, J.K.P. Kwaga, and J.O.O. Bale. 2003. In vitro and in vivo pathogenicity studies of *Escherichia coli* isolated from poultry in Nigeria. **J. Isr. Vet. Med.** 58(1):98-106.
- Rasheed, B.Y. 2011. Isolation and identification of bacteria causing arthritis in chickens. **Iraqi J. Vet. Sci.** 25(2):93-95.
- Robredo, B., K.V. Singh, F. Baquero, B.E. Murray, and C. Torre. 2000. Vancomycin resistant enterococci isolated from animals and food. **Int. J. Food Microbiol.** 54:197-204.
- Salasia S.I.O., S. Tato, F. Prabawati and D. Ariyanti. 2013. Clonal association of methicillin resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) among bovine and human. **J. Ked. Hewan.** 7(2):125-128
- Salasia, S.I.O., S. Tato, N. Sugiyono, D. Ariyanti, and F. Prabawati. 2011. Genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine, human and food origin in Indonesia. **J. Vet. Sci.** 12(4):353-361.
- Salasia, S.I.O., Z. Khusnan, C. Lämmler, and M. Zschöck. 2004. Comparative studies on phenol and genotypic properties of *Staphylococcus aureus*, isolated from bovine subclinical mastitis in Central Java in Indonesia and Hesse in Germany. **J. Vet. Sci.** 5(2):103-109.
- Santos, S.I., R. Mato, H. de Lancastre and A. Tomas. 2000. Collaborators and the International Collaborators. Patterns of multidrug resistance among methicillin-resistant hospital isolates of coagulase-positive and coagulase-negative staphylococci collected in the international multicenter study RESIST in 1997 and 1998. **Microbiol. Drug Resist.** 6:199-211.
- Seguin, J.C., R.D. Walker, J.P. Caron, W.E. Kloos, C.G. George, R.J. Hollis RJ, R.N. Jones, and M.A. Pfaller. 1999. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak in a veterinary teaching hospital: potential human-to-animal transmission. **J. Clin. Microbiol.** 37:1459-1463.
- Suleiman, A., L.T. Zaria LT, H.A. Grema, and P. Ahmadu. 2013. Antimicrobial resistant coagulase positive *Staphylococcus aureus* from chickens in Maiduguri, Nigeria. **Sokoto J. Vet. Sci.** 11(1):51-55.
- Tenover, F.C. and R.V. Goering. 2009. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain USA300: origin and epidemiology. **J. Antimicrob. Chemother.** 64(3):441-446.
- van Vuuren M. 2001. **Antibiotic Resistance, with Special Reference to Poultry Production.** Department of Veterinary Tropical Diseases, Faculty of Veterinary Science University of Pretoria, South Africa Conf. OIE. 135-146.
- Voss, A., F. Loeffen, J. Bakker, C. Klaassen, and M. Wulf. 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. **Emerg. Infect. Dis.** 11:1965-1966.
- Wendlandt, S., K. Kadlec, A.T. Feßler, S. Monecke, A. Ehrlich, A.W. van de Giessen, P.D. Hengeveld, X. Huijsdens, S. Schwarz, and E. van Duin. 2013. Resistance phenotypes and genotypes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from broiler chickens at slaughter and abattoir workers. **J. Antimicrob. Chemother.** 68(11):2458-2463.
- White, D.G., S. Ayers, J.J. Maurer, S.G. Thayer and C. Hofacre. 2003. Antimicrobial susceptibilities of *Staphylococcus aureus* isolated from commercial broilers in Northeastern Georgia. **Avian Dis.** 47:203-210.
- Witte, W. 1999. Antibiotic resistance in gram-positive bacteria: Epidemiological aspects. **J. Antimicrob. Chemother.** 44:1-9.
- Wulf, M. and A. Voss. 2006. MRSA in livestock animals-an epidemic waiting to happen. **Clin. Microbiol. Infect.** 14(6):519-521.
- Yurdakul NE., Z. Erginkaya, and E. Ünal. 2013. Antibiotic resistance of enterococci, coagulase negative staphylococci and *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat. **Czech J. Food Sci.** 31(1):14-19.