

Distribusi Gen Enterotoksin *Staphylococcus aureus* dari Susu Segar dan Pangan Asal Hewan

(DISTRIBUTION OF ENTEROTOXIN GENES OF *Staphylococcus aureus*
FROM FRESH MILK AND FOOD ANIMAL ORIGINS)

¹Siti Isrina Oktavia Salasia, ²Khusnan, ¹Sugiyono.

¹Lab Patologi Klinik, Bagian Patologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada,
Jl. Fauna 2, Yogyakarta 55281, Telpn 0274-7480307, E-mail: isrinasalasia@ugm.ac.id,

²Akademi Peternakan Brahmputra,
Jl. Gurami Nitikan UH VI/237, Yogyakarta 55162.

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is a potential pathogen causing disease in human and animals due to several virulence factors. Staphylococcal enterotoxins which is responsible for foodborne disease is considered to be one of the important virulence factor for the bacteria. The research was conducted to identify various enterotoxin genes of *S. aureus*. Twenty three *S. aureus* isolates from milk cows (12 isolates) and food animal products (11 isolates) were used to study various enterotoxins genes (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, and *sej*). The enterotoxins genes of *S. aureus* were investigated by using polymerase chain reaction (PCR) with specific primers. There were 3 isolates (13.04%) negative for staphylococcal enterotoxin genes. Twenty isolates (86.96%) harboured for one or more staphylococcal enterotoxin genes such as: *sec* (6 isolates/26.09%), *see*, *seh* for 1 isolate (4.35%), combination of 2 genes *se (b,i)*, *se (c,g)*, *se (g,i)* for 1 isolate of each (4.35%), *se(c,e)* for 2 isolates (8.70%), *se(b,c)* for 4 isolates (17.39%). Staphylococcal enterotoxin could be detected in 3 combination genes of *se(b,c,i)*, *se(c,e,i)*, *se(c,g,i)* for 1 isolate of each (4.35%).

Key words : *Staphylococcus aureus*, enterotoxin, fresh milk, food animal origin

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus merupakan patogen penting pada manusia yang menimbulkan berbagai kasus penyakit antara lain infeksi kulit, keracunan makanan, endokarditis, pneumonia, osteomielitis, sepsis arthritis dan encephalitis (Tseng *et al.*, 2004). *S.aureus* dapat ditemukan di lingkungan masyarakat seperti udara, debu, kotoran, air, susu dan makanan atau terdapat pada peralatan makan, manusia maupun pada hewan. Manusia dan hewan merupakan reservoir utama. Pada kebanyakan individu sehat *S.aureus* dapat ditemukan dalam saluran pernafasan, kulit, dan rambut. Kejadian infeksi meningkat apabila kontak dengan individu sakit maupun lingkungan rumah sakit. Sumber utama penyebab kontaminasi makanan oleh *S. aureus* adalah individu yang mengolah makanan, di samping itu dapat juga dari peralatan masak dan lingkungan sekitar (LeLoir *et al.*, 2003).

Stafilokokal enterotoksin (SE) sering sebagai sumber pencemar makanan, karena

enterotoksin tersebut tahan terhadap pemanasan dan tahan terhadap enzim protease seperti pepsin yang terdapat dalam saluran pencernaan. Stabilitas SE terhadap pemanasan dan enzim-enzim pencernaan merupakan salah satu sifat yang sangat penting berkaitan dengan keamanan pangan, karena toksin tetap bertahan meskipun suatu bahan makanan yang tercemar SE sudah dimasak atau dipanaskan dan toksin tersebut apabila sudah termakan akan tahan terhadap enzim-enzim yang ada dalam saluran pencernaan (Balaban dan Rasooly, 2000).

Sampai saat ini telah teridentifikasi berbagai enterotoksin *S. aureus* yaitu *Staphylococcal enterotoxin* A (SEA), B (SEB), C (SEC), D (SED), E (SEE), G (SEG), H (SEH), I (SEI), J (SEJ), K (SEK), L (SEL), M (SEM), N (SEN), O (SEO), P (SEP), Q (SEQ), R (SER), T (SET) dan U (SEU) (Williams *et al.*, 2000; Akineden *et al.*, 2001; Jarraud *et al.*, 2001; Orwin *et al.*, 2002; Yarwood *et al.*, 2002; Letertre *et al.*, 2003; Omoe *et al.*, 2003; Tseng *et al.*, 2004). Salasia *et al.*, (2004) melaporkan di wilayah Hesse, Jerman, telah teridentifikasi stafilokokal

enterotoksin C, D, G, H, I dan J. Beberapa sampel susu sapi perah di Jawa Tengah pernah diisolasi *S. aureus* yang mengandung gen penyandi stafilkokal enterotoksin B, G, H dan I (Salasia *et al.*, 2004). Pada manusia telah diisolasi *S. aureus* dengan gen penyandi enterotoksin yang bervariasi, yaitu enterotoksin A, B, E, G, H dan I (Salasia *et al.*, 2003). Dalam penelitian ini dikaji berbagai gen enterotoksin *S. aureus* yang berasal dari susu segar dan pangan olahan asal hewan dari berbagai wilayah di Jawa.

Tujuan penelitian adalah dapat diketahui distribusi gen penyandi enterotoksin *S. aureus* dari susu segar dan pangan olahan asal hewan. Dengan mengetahui distribusi enterotoksin ini, maka diharapkan dapat diperoleh informasi dalam pengendalian stafilkokal enterotoksis.

METODE PENELITIAN

Isolat *S. aureus*

Dalam penelitian ini digunakan sebanyak 23 isolat *S. aureus* yang terdiri dari 12 isolat asal susu segar dan 11 isolat pangan olahan asal hewan yang berasal dari berbagai wilayah di P. Jawa. Semua isolat telah dilakukan identifikasi secara fenotipik, berdasarkan kemampuan *S. aureus* menfermentasi *mannitol* pada media *mannitol salt agar* (MSA), uji katalase, dan koagulase positif (Salasia *et al.*, 2007; Salasia *et al.*, 2008).

Preparasi DNA

Deoxyribonucleic acid (DNA) dari 27 isolat *S. aureus* dipreparasi dengan menggunakan *Qiamp tissue kit* (Qiagen, Hilden, Jerman) sesuai prosedur yang telah ditentukan oleh pabrik. Setelah bakteri ditanam pada plat agar darah selama 24 jam, pada suhu 37°C, 5-10 koloni bakteri disuspensikan dalam bufer 180 µl TE (10 mM Tris HCl, 1 mM EDTA pH 8, kemudian ditambahkan 5 µl *lysostaphin* (1.8 U/µl; Sigma, Jerman). Setelah inkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C, ditambahkan 25µl proteinase K (14,8 mg/ml; Sigma, Jerman) dan 200µl buffer AL (yang berisi reagen AL 1 dan AL 2). Suspensi bakteri diinkubasi selama dua jam pada suhu 56°C, di-*vortex* supaya homogen, segera dipanaskan pada suhu 95°C selama 10 menit kemudian didinginkan pada suhu 4°C selama 10 menit. Setelah suspensi didinginkan, kemudian disentrifus 6.000g selama 15 detik,

sebanyak 420µl etanol ditambahkan ke dalam masing-masing sampel dan ditempatkan ke dalam kolom *QIAamp*. Setelah sentrifugasi 6.000g selama satu menit, kolom *QIAamp* ditempatkan di atas tabung koleksi dan sampel dicuci dua kali dengan 500µl AW (Qiagen, Jerman). Kolom *QIAamp* kemudian disentrifus 6.000g selama 3 menit, kemudian kolom ditempatkan di atas 2 ml tabung *Eppendorf* dan DNA yang ada pada kolom dilusi dengan 200 µl bufer AE. Hasil eluat sampel DNA dapat disimpan pada suhu -20°C (Salasia *et al.*, 2004).

Amplifikasi Gen Enterotoksin

Amplifikasi gen enterotoksin *S. aureus* (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, dan *sej*) ditentukan dengan menggunakan primer spesifik dengan program PCR yang telah ditentukan berdasar referensi (Salasia *et al.*, 2004). Campuran reaksi untuk PCR sebanyak 30 µl terdiri atas 1 µl primer 1 (10 pmol; MWG Oligo Synthese-Report), 1µl primer 2 (10 pmol; MWG Oligo Synthese-Report, Jerman), 0,6µl dNTP (10 mM; MBI Fermentas, St. Leon Rot, Germany), 3,0µl 10 x *thermophilic buffer* (Promega/Boehringer, Ingelheim, Jerman), 1,8 µl MgCl₂ (25 mM Promega/Boehringer, Ingelheim, Jerman) dan 0,1µl *Taq DNA polymerase* (5 U/µl; Promega/Boehringer) dan 20µl aquades steril. Masing-masing reaksi kemudian ditambahkan 2,5µl DNA. Campuran reaksi kemudian disentrifuse beberapa detik, dan dimasukkan ke dalam *thermal cycler* dengan program seperti referensi (Salasia *et al.*, 2004). Hasil amplifikasi dianalisis menggunakan elektroforesis dengan 2% agarose dan Syber safe, kemudian divisualisasi dengan *UV transilluminator* dan dibandingkan dengan kontrol dengan bantuan marker 1 Kb DNA Ladder (1¼g/¼l; Invitrogen).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasar identifikasi gen stafilkokal enterotoksin, terdapat 20 isolat (86,96%) dapat dideteksi satu macam gen atau kombinasi dari berbagai macam gen enterotoksin dan 3 isolat (21,62%) tidak terdeteksi adanya gen enterotoksin. Dari Tabel 1 diketahui bahwa gen enterotoksin c (*sgc*) paling banyak ditemukan yaitu pada 16 isolat *S. aureus* (69,575%), diikuti dengan *seb* sebanyak 6 (26,09%), *sei* 5 (21,74%), *see* 4 (17,39%), *seg* 3 (13,04%), hanya 1 isolat

ditemukan *seh* (4,35%), *sea*, dan *sej* tidak ditemukan diantara isolat.

Pada identifikasi gen enterotoksin dapat dideteksi satu macam gen atau kombinasi dari berbagai macam gen antara lain: *sec* (6 isolat/20,69%), *see* (3 isolat/10,34%), *seh* (2 isolat/6,90%), kombinasi 2 gen *se(b,i)*, *se(c,g)*, *se(e,h)* masing-masing 1 isolat (3,45%), *se(c,e)*, *se(g,i)* masing-masing 2 isolat (6,90%), *se(a,h)* 3 isolat (10,34%), dan *se(b,c)* 4 isolat (13,79%). Gen stafilocokal enterotoksin dengan 3 kombinasi adalah *se(b,c,i)*, *se(c,e,i)*, *se(c,g,i)* masing-masing 1 isolat (3,45%) dan kombinasi 4 gen adalah *se(b,g,h,i)* sebanyak 1 isolat (3,45%) (Tabel 1 dan 2). Analisis hasil PCR *sea*, *seb*, *sec*, *see*, dan *seg* dengan elektroforesis menggunakan 2% agarose dapat dilihat pada Gambar 1, dengan ukuran amplikon secara berurutan adalah 216, 478, 257, 170, dan 642 bp.

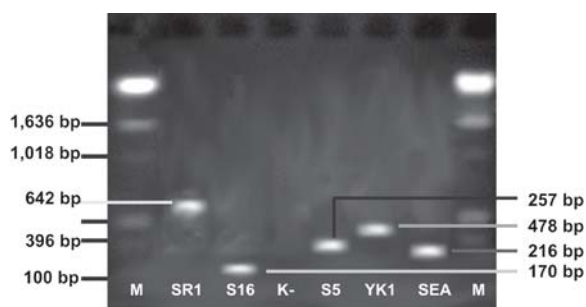
Dalam penelitian ini berhasil diidentifikasi berbagai macam gen penyandi stafilocokal enterotoksin (SE) yaitu *seb*, *sec*, *see*, *seg*, *seh*, dan *sei* dari *S. aureus* yang diisolasi dari susu segar, susu kemas, *yakult*, roti, keju, dan berbagai produk asal daging seperti bakso dan sosis. Data penelitian ini sejalan dengan adanya berbagai laporan kasus keracunan pangan yang menimpa kalangan masyarakat luas. Masyarakat yang keracunan cenderung dalam suatu kelompok, setelah mereka mengkonsumsi suatu makanan dengan jenis dan sumber yang sama. Sumber keracunan antara lain berasal dari makanan jajanan, makanan olahan, jasa boga/katering, rumah tangga. Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) pada tahun 2004, pernah melakukan pengujian laboratorium atas berbagai kasus keracunan makanan, ditemukan adanya mikroba patogen terutama *S.aureus* (Kompas, 2004).

Tabel 1. Identifikasi gen enterotoksin *S.aureus* dari susu segar dan berbagai pangan olahan asal hewan

No.	Kode Isolat	Asal Isolat	Gen stafilocokal enterotoksin								
			<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>D</i>	<i>e</i>	<i>g</i>	<i>h</i>	<i>i</i>	<i>j</i>
<i>Susu segar</i>											
1	S2	Susu, Yogya	-	-	-	-	-	-	+	-	-
2	S5	Susu, Yogya	-	-	+	-	-	-	-	-	-
3	S10	Susu, Yogya	-	-	+	-	-	-	-	-	-
4	S16	Susu, Yogya	-	-	+	-	+	-	-	+	-
5	S24	Susu, Yogya	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	S25	Susu, Yogya	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	S28	Susu, Yogya	-	+	+	-	-	-	-	+	-
8	S34	Susu, Solo	-	-	+	-	-	-	-	-	-
9	S39	Susu, Solo	-	-	+	-	+	-	-	-	-
10	S47	Susu, Solo	-	+	-	-	-	-	-	+	-
11	SY3	Susu, Yogya	-	-	+	-	-	+	-	+	-
12	SY7	Susu, Yogya	-	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>Pangan olahan asal hewan</i>											
13	BL2	Bolen, Bandung	-	-	+	-	-	-	-	-	-
14	B3	Bakso, Yogya	-	-	+	-	-	-	-	-	-
15	BW4	Brownies, Jakarta	-	-	-	-	+	-	-	-	-
16	RO	Rolade, Yogya	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	RY6	Roti, Yogya	-	-	+	-	-	+	-	-	-
18	SY1	Susu kemas, Yogya	-	+	+	-	-	-	-	-	-
19	SI1	Susu kemas, Yogya	-	-	+	-	-	-	-	-	-
20	YK1	Yakult, Yogya	-	+	+	-	-	-	-	-	-
21	SR1	Susu kemas, Yogya	-	-	+	-	+	-	-	-	-
22	SS2	Sosis, Yogya	-	+	+	-	-	-	-	-	-
23	K1	Keju, Sidoarjo	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Jumlah (%)			0	6	16	0	4	3	1	5	0
			(0)	(26,09)	(69,57)	(0)	(17,39)	(13,04)	(4,35)	(21,74)	(0)

Tabel 2. Distribusi gen enterotoksin dari berbagai sampel *S.aureus*

Stafilokokal enterotoksin genotip	Jumlah (%) gen stafilokokal enterotoksin dari berbagai sampel		Total (%)
	Susu segar	Pangan olahan asal hewan	
	Total isolat	12	
SE negatif	2	1	3 (13,04)
SE positif	10	10	20 (86,96)
<i>sec</i>	3	3	6 (26,09)
<i>see</i>	-	1	1 (4,35)
<i>seh</i>	1	-	1 (4,35)
<i>seb, sec</i>	-	4	4 (17,39)
<i>seb, sei</i>	1	-	1 (4,35)
<i>sec, see</i>	1	1	2 (8,70)
<i>sec, seg</i>	-	1	1 (4,35)
<i>seg, sei</i>	1	-	1 (4,35)
<i>seb, sec, sei</i>	1	-	1 (4,35)
<i>sec, see, sei</i>	1	-	1 (4,35)
<i>sec, seg, sei</i>	1	-	1 (4,35)
Total	10 (34,48)	10 (34,48)	29 (100)



Gambar 1. Analisis gen *sea* (216 bp, SEA/referen), *seb* (478 bp, YK1/Yakult), *sec* (257 bp, S5/susu segar), *see* (170 bp, S16/susu segar) dan *seg* (642 bp, SR1/susu kemasan). K- (kontrol negatif), M (Marker DNA, Invitrogen).

Ditemukannya *S. aureus* dalam susu segar kemungkinan disebabkan karena adanya infeksi *S. aureus* pada sapi perah. *S. aureus* diketahui dapat menyebabkan infeksi intramamariae yang dapat bersifat klinis maupun subklinis. Reservoir utama *S.aureus* terdapat dalam ambing/kuartir yang terinfeksi, penyebaran di antara sapi terjadi selama proses pemerahan (Akineden *et al.*, 2001). Kejadian mastitis subklinis kemungkinan tidak diketahui oleh peternak, karena sapi perah tidak memperlihatkan adanya peradangan atau pembengkakan ambing. Dalam kondisi seperti tersebut, susu segar yang diperah kemungkinan dapat tercemar oleh *S.aureus*.

S.aureus yang dapat diisolasi dari berbagai pangan olahan asal hewan kemungkinan karena adanya pencemaran yang berasal dari lingkungan baik yang berasal dari hewan, manusia mau pun alat-alat yang digunakan dalam proses pembuatan makanan. Kondisi penyimpanan makanan yang tidak sesuai kemungkinan besar menyebabkan terjadinya pertumbuhan *S.aureus*. Penyakit-penyakit akibat keracunan pangan (*food-borne diseases*) merupakan masalah utama yang berdampak pada kesehatan masyarakat. Di Amerika setiap tahun hampir 6-80 juta orang terkena keracunan pangan dan menyebabkan kematian sekitar 9.000 orang dengan biaya penanganan kasus tersebut sekitar 5 bilion US dolar (Balaban dan Rasooly, 2000; LeLoir *et al.*, 2003). Penyebab keracunan paling sering adalah akibat enterotoksin yang dihasilkan oleh *S.aureus*. Gambaran *outbreak* keracunan makanan secara spesifik yang pernah terjadi di Texas, mengakibatkan 1.364 anak-anak sekolah sakit setelah mengkonsumsi ayam salad. Berdasarkan pemeriksaan laboratorik dalam ayam salad telah ditemukan sejumlah besar *S. aureus*. Berdasarkan analisis, kontaminasi *S.aureus* kemungkinan terjadi pada saat ayam dilakukan *deboned* (pengambilan tulang) setelah ayam dimasak. Kuman berkembang biak semakin banyak diperkirakan pada saat ayam salad dibiarkan pada temperatur kamar sebelum disajikan untuk makan siang anak-anak sekolah. Kasus keracunan pangan yang dilaporkan terjadi di Inggris kebanyakan berasal dari daging babi (*ham*), daging ayam, dan produk-produknya sebanyak 75%, ikan dan kerang (7%) dan produk susu (8%) (Balaban dan Rasooly, 2000).

Outbreak keracunan pangan kebanyakan akibat stafilokokal enterotoksin tipe A (SEA) dan dari kasus tersebut dapat terjadi kesembuhan sebesar 77,8%, kesembuhan akibat SED sebesar 37,5% dan akibat SEB 10%. Kadar enterotoksin untuk menimbulkan enterotoksikosis relatif sangat kecil, dosis infeksi kurang dari 1¼g dalam makanan yang terkontaminasi, dapat mengakibatkan gejala-gejala intoksikasi. Dosis toksin tersebut dapat dicapai apabila terdapat 100.000 *S.aureus* per gram makanan. Kejadian enterotoksikosis di AS dilaporkan akibat konsumsi susu coklat yang mengandung SEA. Pada kasus tersebut kadar rata-rata SEA dalam 400ml kontainer hanya sekitar 0,5 ng/ml. Enterotoksin dapat dideteksi apabila terdapat

toksin sedikitnya sekitar $10^3/g$ inokulat *S.aureus* (Balaban dan Rasooly, 2000; LeLoir *et al.*, 2003).

Dalam penelitian ini gen penyandi stafilocokal enterotoksin A (*sea*) tidak ditemukan pada *S. aureus*. Akan tetapi mengingat bahwa gen *sea* dan *seb* pernah dapat diisolasi pada *S. aureus* yang berasal dari infeksi kulit manusia, maka kemungkinan SEA dapat pula ditemukan dari berbagai sumber makanan. Salasia *et al.*, (2003) melaporkan adanya gen *sea*, *seb*, *seg*, *seh* dan *sei* serta gen kombinasi *see* dengan *seh*, *sea* dan *seh*, *seg* dengan *sei* dan kombinasi *seb*, *seg*, *seh* dengan *sei* pada *S. aureus* isolat asal manusia di Yogyakarta. Gen *seb*, serta kombinasi *seg* dengan *sei* juga dilaporkan terdapat pada *S. aureus* yang diisolasi dari kasus *staphylococcal scarlet fever* di Rumah Sakit Pusat Taiwan Bagian Utara (Wang *et al.*, 2004). Kasus fatal endokarditis yang disebabkan oleh stafilocokal enterotoksin A pernah dilaporkan terjadi pada wanita yang awalnya menderita radang telinga bagian tengah yang berlanjut menjadi endokarditis (Ellis *et al.*, 2003).

Dalam penelitian ini gen penyandi stafilocokal enterotoksin B (*seb*) dapat diidentifikasi pada *S. aureus* asal susu segar, susu kemas, sosis dan *yakult*. Enterotoksin tipe B telah dilaporkan mempunyai potensi dalam meningkatkan aktifitas superantigen (Greenfield *et al.*, 2002). Sifat penting stafilocokal yang bersifat superantigenik, yaitu dengan memperlihatkan aktifitasnya melalui interaksi antara antigen dan limfosit T, tanpa adanya spesifitas antigen pada sel. Kondisi ini merangsang terjadinya proliferasi sel dan peningkatan sitokin dengan konsentrasi yang tinggi (Ferrens *et al.*, 1998). Sitokin yang diproduksi dalam jumlah yang banyak mengakibatkan gejala-gejala *toxic shock syndrome* (Todar, 2005). Keracunan makanan akibat stafilocokal enterotoksin B pernah dilaporkan di South Batimah, Oman, akibat mengkonsumsi *yoghurt* yang dibuat oleh seorang wanita yang menderita infeksi kronis pada kuku jari tangan sebelah kanan. Kemungkinan secara tidak langsung kondisi tersebut menyebabkan kontaminasi pada *yoghurt*. Berdasar pemeriksaan lebih lanjut diketahui adanya stafilocokal enterotoksin B dari sampel makanan, muntahan dan kuku yang terinfeksi (Suleiman *et al.*, 1996).

Gen stafilocokal enterotoksin *seb*, *seg*, *seh* dan *sei* pernah diidentifikasi dari isolat *S. aureus*

yang diisolasi dari susu sapi segar yang menderita mastitis subklinis di wilayah Jawa Tengah (Salasia *et al.*, 2004). Gen stafilocokal enterotoksin *seg*, *sei*, dan *sej* merupakan gen enterotoksin yang lebih sering ditemukan pada sapi yang mengalami mastitis. Kombinasi gen *sec*, *seg*, dan *sei* juga ditemukan pada isolat *S. aureus* yang berasal dari susu sapi yang menderita mastitis (Akineden *et al.*, 2001). Di wilayah Hesse, Jerman lebih dominan ditemukan gen stafilocokal enterotoksin *sec*, *sed*, *seg*, *seh*, *sei*, dan *sej* isolat *S. aureus* dari sapi yang menderita mastitis subklinis. Dalam penelitian yang sama, terdapat kombinasi gen stafilocokal enterotoksin *seg* dan *sei* serta kombinasi *sed* dan *sej* (Salasia, *et al.*, 2004). Gen *sea*, *seb*, *sec2*, *sed*, dan *see* juga berhasil diidentifikasi oleh Chapaval *et al.*, (2006) dari isolat *S. aureus* yang berasal dari susu segar di Sao Paulo, Brasil.

Zschöck *et al.*, (2005) menemukan adanya kombinasi dua gen penyandi enterotoksin dan kombinasi tiga atau lebih gen penyandi enterotoksin isolat *S. aureus* yang berasal dari 61 sapi yang menderita mastitis di daerah Hessen, Jerman. Kombinasi dua gen penyandi enterotoksin antara lain adalah *seg* dengan *sei*, *seg* dengan *sej*, *sec* dengan *seg*, *seb* dengan *sei* dan *sed* dengan *sej*, kombinasi tiga gen penyandi enterotoksin yaitu *sec*, *seg* dengan *sei* dan *sec*, *seg* dengan *sej*.

Adanya kombinasi berbagai gen enterotoksin dalam *S.aureus* kemungkinan dikarenakan gen-gen tersebut secara struktural saling berdekatan. Kebanyakan *pathogenicity islands* *S. aureus* memiliki gen yang mengontrol *toxic shock syndrome toxin (tst)*, *s-* dan *cell-like protein* (Fitzgerald *et al.*, 2001) serta gen yang mengontrol stafilocokal enterotoksin B, K, dan Q (Yarwood *et al.*, 2002). Zhang *et al.*, (1998) melaporkan bahwa dalam *pathogenicity islands* terdapat gen *tst* dan *open reading frame* yang sekuennya mirip dengan gen yang menyandi stafilocokal enterotoksin serta satu bagian yang mengandung gen enterotoksin D dan J. Grup gen enterotoksin yang terdiri dari *seg*, *sei*, *sen*, *seo*, dan *sem* disandi oleh *enterotoxin gene cluster (egc)* (Jarraud *et al.*, 2001). Gen *seg*, *seh*, *sei*, dan kombinasi dengan gen *sea* dan atau *sed* juga dilaporkan terdapat pada *S.aureus* yang berhasil diisolasi dari sampel makanan (Chen *et al.*, 2004).

Keberadaan *S. aureus* dalam pangan asal ternak dan produk pangan asal ternak dan manusia akan membahayakan bagi manusia,

karena diketahui bahwa *S. aureus* memproduksi beberapa macam enterotoksin yang menyebabkan *toxic shock syndrome* (Marrack dan Kappler, 1990; Dinges *et al.*, 2000; Omoe *et al.*, 2002). Penyebab penting pada kasus keracunan makanan yaitu enterotoksin yang dihasilkan ketika *S.aureus* tumbuh pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein (Jawetz *et al.*, 2001). *S.aureus* bersifat patogen karena adanya kombinasi toksin mediasi virulensi, invasif, dan resistensi terhadap antibiotik (Le Loir *et al.*, 2003).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa dalam susu segar, pangan olahan asal hewan dapat diisolasi *S.aureus* yang mengandung berbagai gen enterotoksin. Dalam susu segar dapat diidentifikasi *seb*, *sec*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, dalam susu kemas (*seb*, *sec*, *see*), *yakult* (*seb*, *sec*), roti (*sec*, *see*, *seg*), keju (*seb*, *sec*), bakso (*sec*) dan sosis (*seb*, *sec*). *S.aureus* tersebut berpotensi menghasilkan berbagai jenis enterotoksin yang berbahaya bagi masyarakat karena dapat menyebabkan keracunan makanan. Dalam penelitian ini berhasil diidentifikasi adanya gen penyandi enterotoksin baik tunggal maupun kombinasi. Adanya kombinasi berbagai gen enterotoksin, kemungkinan *S.aureus* dapat menghasilkan berbagai macam enterotoksin yang satu sama lain dapat berinteraksi dalam menyebabkan sindrom keracunan makanan dengan gejala yang lebih fatal.

SARAN

Diharapkan dari hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai pedoman dalam menangani kasus keracunan makanan akibat enterotoksin *S.aureus*. Perlu dilakukan biosekuriti yang cermat terhadap produde susu dan pangan asal hewan agar tidak menimbulkan akibat buruk di masyarakat.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini sebagian merupakan hasil penelitian yang dibiayai melalui program Riset Insentif Terapan 2007-2008 (Menristek) dan kelanjutan penelitian yang dibiayai melalui program Hibah Kompetensi 2008 (Mendiknas).

DAFTAR PUSTAKA

- Akineden Ö, Annemüller C, Hasan A, Lämmler C, Wolter W, Zschök M. 2001. Toxin genes and other characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from milk of cow with mastitis. *Clinical and Diagnostic Lab Immunol* 8(5): 959-964.
- KOMPAS. 2004. Mikroba Patogen Penyebab Keracunan. 4 September 2004.
- Anonim, 2006. *Staphylococcus aureus*. Food and Drug Administration. Center for Food Safety & Applied Nutrition. <http://www.cfsan.fda.gov>. (14 Juni 2006)
- Balaban N. and A. Rasooly, 2000. Review staphylococcal enterotoxins. *J Food Microbiol* 61, 1-10.
- Chapaval L, Moon DH, Gomes JE, Duarte FR, Tsai SM. 2006. Use of PCR to detect classical enterotoxins genes (ENT) and toxic shock syndrome toxin-1 (TSST) in *Staphylococcus aureus* isolated from crude milk and determination of *S. aureus* isolates harboring these genes. *Arq. J Inst Biol* 73: 165-169.
- Chen TR, Chiou CS, Tseng HY. 2004. Use of novel PCR primers spesific to the genes of Staphylococcal Enterotoxin G, H, J for the survey of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food-poisoning cases and food samples in Taiwan. *J Food Microbiol* 92: 189-197.
- Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. 2000. Enterotoxins of *Staphylococua aureus*. *J Clin Microbiol Rev* 13: 16-34.
- Ellis M., Serreli A., Navarro P.C., Hedstrom U., Chacko A., Siemkowicz E. and Möllby R. 2003. Role of Staphylococcal enterotoxin A in a fatal case of endocarditis. *J Med Microbiol*. 52: 109-112.
- Ferrens W A, Davis WC, Hamilton M J, Park YH, Deobald C F, Fox L, Bohach G. 1998. Activation of bovine lymphocyte subpopulations by staphylococcal enterotoxin C. *J Infect Immun* 66: 573-580.
- Fitzgerald JR, Monday SR, Foster TJ, Bohach GA, Hartigan PJ, Meaney WJ, Smyth CJ. 2001. Characterisation of a putative pathogenicity island from bovine *Staphylococcus aureus* encoding multiple superantigens. *J Bacteriol* 183: 63-70.
- Greenfield R A, Brown BR, Hutchins JB, Iandolo JJ, Jackson , Slater LN, Bronze MS. 2002. Microbiological, biological, and chemical weapons of warfare and terrorism. *Am J Med Sci* 323-340.

- Jarraud S, Peyrat MA, Lim A, Tristan A, Bes M, Mougél C, Etienne J, Vandenesch F, Bonneville M, Lina G. 2001. *egc*, a highly prevalent operon of enterotoxins gene, forms A Putative Nursery Of Superantigens in *Staphylococcus aureus*. *J Immunol* 166: 669-677.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2001. *Microbiologi Kedokteran*. Edisi I. Jakarta. Penerbit Salemba Medika. Pp. 317-326.
- Letertre C, Perelle S, Dilasser F, Fach P. 2003. Identification of a new putative enterotoxin SEU encoded by *egc* cluster *Staphylococcus aureus*. *J Appl Microbiol* 95: 38-43.
- LeLoir Y, Baron F, Gautier M. 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Gene. Mol Res* 2(1): 63-76.
- Marrack P, Kappeler J. 1990. The staphylococcal enterotoxin and their relatives. *Science* 248: 705-711.
- Omoe K, Ishikawa M, Shimoda Y, Hu DJ, Ueda K, Shinagawa K. 2002. Detection of *seg*, *seh* and *sei* genes in isolates and determination of the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolates harbouring *seg*, *seh* and *sei* genes. *J Clin Microbiol* 40: 857-862.
- Omoe K, Hu DL, Takahashi-Omoe, Nakane H, Shinagawa, K. 2003. Identification and characterization of a new staphylococcal enterotoxin-related putative toxin encoded by two kinds of plasmids. *J Infect Immun* 71: 6088-6094.
- Orwin PM, Leung DYM, Tripp TJ, Bohach GA, Earhart CA, Ohlendorf DH, Schlievert PM. 2002. Characterization of staphylococcal enterotoxin-like superantigen, a member of the group V subfamily of pyrogenic toxins. *J Biochemistry* 41: 14033-14040.
- Salasia SIO, Khusnan, Lämmler C, Nirwati H. 2003. Pheno- and genotyping of *Staphylococcus aureus*, isolated from human skin infections in Yogyakarta. *I J Biotech*. June. Pp 612-620.
- Salasia SIO, Khusnan, Lämmler C, Zshock M. 2004. Comparative studies on Pheno- and genotypic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis in Central Java, Indonesia and Hesse, Germany. *J Vet Res Sci* 5(2): 103-109.
- Salasia SIO, Widiastih DA, Khusnan, Sugiyono, Anggraeni NS. 2007. Identifikasi dan karakterisasi *Staphylococcus aureus* dari berbagai produk pangan asal ternak. Seminar Klaster Riset, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 30 Oktober 2007.
- Salasia SIO, Anggraeni NS, Khusnan, Sugiyono, Widiastih DA. 2008. Distribusi faktor virulensi *Staphylococcus aureus* dari berbagai produk pangan asal ternak. Prosiding Seminar nasional "Peran Bioteknologi bagi Kesejahteraan Umat", Yogyakarta, 24 Mei 2008.
- Suleiman AJM, Elbually MS, Jaffer Y, Mehta FR, Al Awaidy S. 1996. Food borne outbreaks. Community Health and Disease Surveillance. Sultanate of Oman Ministry of Health. Vol. V-No. 3. Juli-September 1996: 5-6.
- Todar K. 2005. Todar's online textbook of bacteriology. *Staphylococcus*. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology. www.textbookofbacteriology.net/staph.html.
- Tseng CW, Zhang S, Stewart GC. 2004. Accessory gene regulator control of Staphylococcal enterotoxin D gene expression. *J Bacteriology*. 186: 1793-1801.
- Wang CC, Lo WT, Hsu CF, Chu ML. 2004. Enterotoxin B Is The Predominant Toxin Involved in Staphylococcal Scarlet Fever in Taiwan. *J Clin Infect Dis* 38: 1498-1502.
- Williams RJ, Ward JM, Henderson B, Poole S, O'hara BP, Wilsom M, Nair SP. 2000. Identification of a novel gene cluster encoding staphylococcal exotoxin-like proteins : Characterization of the prototypic gene and its product, SET1. *Infect Immun* 68: 4407-4415.
- Yarwood JM, McCprnick JK, Paustian M.L, Orwin PM, Kapur V, Schlievert PM. 2002. Characterisation and expression analysis of *Staphylococcus aureus* pathogenicity island 3. *J Biol Chem* 277: 13147-13188.
- Zhang J, Iandolo J, Stewart GC. 1998. The Enterotoxin D Plasmid of *Staphylococcus aureus* Encodes A Second Enterotoxin Determinant (*sej*). *J FEMS Microbiol Lett* 168: 227-233.
- Zschöck M, Kloppert B, Wolter W, Hamann HP, Lämmler Ch. 2005. Pattern of Enterotoxin Genes *seg*, *seh*, *sei* and *sej* positive *Staphylococcus aureus* Isolated from Bovine Mastitis. *J Vet Microbiol* 108: 243-249.