

# PEMBUKTIAN HORIZONTAL TRANSFER OF RESISTANCE GENES MELALUI UJI SENSITIVITAS ANTIBIOTIKA PADA BAKTERI GENUS *Staphylococcus* DARI KASUS BOVINE MASTITIS

Mustofa Helmi Effendi

Departemen Kesmavet, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Email: [mheffendi@yahoo.com](mailto:mheffendi@yahoo.com)

## ABSTRACT

The experiment was carried out to show the evidence of horizontal transfer of resistance genes by antibiotics sensitivity test on bacteria of genus of *Staphylococcus* from bovine mastitic cases. The first step of the experiment was to prepare pure culture of *Staphylococcus aureus* and *Coagulase Negative Staphylococci*. Milk samples were collected from mastitic cases at the afternoon milking time. Preparation of pure culture of isolates were confirmed by MS agar, hemolytic activity, catalase and coagulase test. Both isolates were tested by using antibiotics sensitivity test. The result showed that the both isolates of *Staphylococcus aureus* and *Coagulase Negative Staphylococci* from Surabaya dairy herd were resistant against erythromycin antibiotic. Based on the result, it can be concluded that there was horizontal transfer of resistance genes between both isolates from same udder of dairy cows.

**Key words:** antibiotics sensitivity test, *Staphylococcus aureus*, *Coagulase Negative Staphylococci*, bovine mastitis, resistance genes

## PENGANTAR

Keberadaan bakteri dalam susu menjadi masalah terutama dalam penyediaan susu yang sehat, aman dan berkualitas baik. Status bakteri dalam susu senantiasa dikaitkan dengan kesehatan sapi perah, lingkungan saat pemerahan dan teknologi penanganannya (Morin dan Hurley, 2003). Susu yang dikeluarkan langsung dari puting susu, telah mengandung sejumlah bakteri. Bakteri tersebut dapat berasal dari dalam tubuh hewan sendiri atau dari luar yang merupakan hasil kontaminasi. Kontaminasi terbesar berasal dari peralatan pemerahan susu. Bakteri yang ada dalam susu akan berbiak dengan cepat sesuai dengan kondisi yang tersedia di dalam susu. Hal ini merupakan potensi baru untuk terjadinya penularan penyakit ke ambing sapi sehat yang berakibat terjadinya mastitis.

Kerugian ekonomi secara umum yang diakibatkan mastitis subklinis, meliputi penurunan produksi, penurunan mutu susu, pembuangan susu, biaya perawatan dan pengobatan, pengafkiran ternak lebih awal serta pembelian sapi perah baru. Penurunan produksi susu akibat mastitis sangat bervariasi antara 10–40% (Morin dan Hurley, 2003).

Untuk mengurangi kerugian ekonomi perlu dilakukan pengendalian mastitis secara tepat dan efisien. Pengendalian mastitis yang tepat, salah satunya melalui sistem pengobatan yang efektif dengan menggunakan antibiotika. Perkiraan yang tepat untuk mengestimasi penggunaan antibiotika di bidang peternakan sulit dilakukan karena tidak adanya koleksi nasional tentang penggunaan antibiotika tersebut.

Sebagai perbandingan tentang penggunaan antibiotika di Amerika Serikat, hampir 90% penggunaan antibiotika di bidang peternakan digunakan sebagai konsentrasi *subtherapeutic* dengan perbandingan 70% digunakan sebagai pencegahan penyakit dan sisanya sebagai faktor pendorong pertumbuhan (Levy, 2002).

Ada tiga kategori tentang penggunaan antibiotika dalam bidang kedokteran hewan, yaitu sebagai pengobatan untuk mengatasi adanya penyakit, digunakan sebagai pencegahan (*prophylactic*) dalam risiko penyakit yang tinggi dan sebagai pendorong peningkatan produksi hewan ternak yang dikenal sebagai *subtherapeutic* (McAllister *et al.*, 2001). Meskipun lama waktu penggunaan berbeda antara tujuan sebagai *prophylactic* dan *subtherapeutic*, jumlah antibiotika yang dipakai umumnya sama, yaitu 200 gram/ton pakan (Levy, 2002).

Keuntungan penggunaan antibiotika untuk promosi pertumbuhan hewan digambarkan oleh Sawant (2005) sebagai berikut: 1) memperbaiki pertumbuhan, 2) mengurangi risiko penyakit, 3) memperbaiki sistem digesti, 4) untuk penggemukan hewan, dan 5) pengurangan waktu dan jumlah pakan dalam mencapai berat badan ideal untuk dipotong.

Beberapa golongan antibiotika disetujui penggunaannya dalam pakan ternak termasuk di dalamnya golongan betalaktam (penisilin, ampisilin, *cephalosporin*), golongan tetrasiklin, golongan aminoglikosida, golongan makrolida (eritromisin) dan sulfonamida. Kebanyakan golongan betalaktam digunakan dalam pengobatan mastitis yang

termasuk di dalamnya adalah penisilin G, amoksisilin, *cloxacillin* dan *hetacillin* yang penggunaannya sebagai preparat *intra mammary* (Sawant, 2005).

Antibiotika lainnya yang sering digunakan dalam pengobatan mastitis adalah eritromisin yang bisa digunakan dalam masa laktasi atau masa kering, sementara tetrasiklin merupakan antibiotika penting yang digunakan dalam peternakan sapi perah sebagai tambahan minuman pengganti susu untuk anak sapi (Heinrichs *et al.*, 1995) yang berfungsi untuk meningkatkan pertambahan berat badan anak sapi. Lebih dari 60% peternakan sapi perah di Amerika Serikat menggunakan antibiotika dalam minuman pengganti susu, dan chlortetrasiklin dan oksitetrasiklin adalah paling banyak digunakan sebagai bagian antibiotika tambahannya (Khachatourians, 1998).

Penggunaan antibiotika yang tidak tepat dapat mengakibatkan adanya agen penyakit yang resisten terhadap antibiotika tersebut. Untuk membahas masalah agen yang mempunyai sifat resisten terhadap antibiotika perlu dilakukan penelitian. Hal ini harus didasari oleh adanya data tentang sensitivitas antibiotika pada agen penyebab mastitis. Oleh karena penelitian ini perlu dilakukan untuk mempelajari keefektifan pengobatan mastitis.

## BAHAN DAN CARA KERJA

Deteksi dan diagnosis mastitis dilakukan berdasarkan visualisasi dan palpasi pada ambing sapi perah. Dalam kasus mastitis klinis, ambing sapi perah menjadi keras, kemerahan dan hangat. Palpasi pada ambing menyebabkan sapi kesakitan. Simtom ini merupakan perubahan dari sistem aliran darah di *glandula mammae* ketika terjadi peradangan.

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

## Koleksi sampel dan identifikasi

Sampel diperoleh dari susu sapi perah penderita mastitis subklinis dari peternakan sapi perah Surabaya. Sampel dikultur pada media MS agar dan dilanjutkan subkultur pada agar darah untuk diidentifikasi, dan menunjukkan hasil: bentuk mikroskopis kokus bergerombol, uji katalase (+), uji koagulase (+) dan pewarnaan Gram (+). Dari sampel susu yang terdapat isolat *Staphylococcus aureus* juga

diisolasi *Coagulase Negative Staphylococci* (CNS). Isolat CNS diperoleh dengan uji koagulase (-). Masing-masing isolat merupakan pasangan hasil isolasi dari puting susu sapi perah yang sama.

## Uji sensitivitas *in vitro*

Pengujian sensitivitas terhadap enam antibiotika dilakukan dengan menggunakan metode difusi dari Kirby Bauer. 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 15 µg, Ciproxin 5 µg, Tetrasiklin 30 µg dan Penisilin 10 IU yang ditujukan pada tiap pasangan isolat Genus *Staphylococcus*.

## HASIL

Penelitian ini didahului oleh penelitian yang bersifat survei observasional dengan tujuan untuk mengetahui prevalensi mastitis di peternakan sapi perah di Surabaya. Sampel susu mastitis tersebut diisolasi isolat *Staphylococcus aureus* dan *Coagulase Negative Staphylococci* dengan maksud untuk diteliti tentang adanya *Horizontal Transfer of Resistance Genes*. Pada penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk lebih memahami cara penularan gen resisten terhadap antibiotika pada kasus mastitis sapi perah.

## 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.

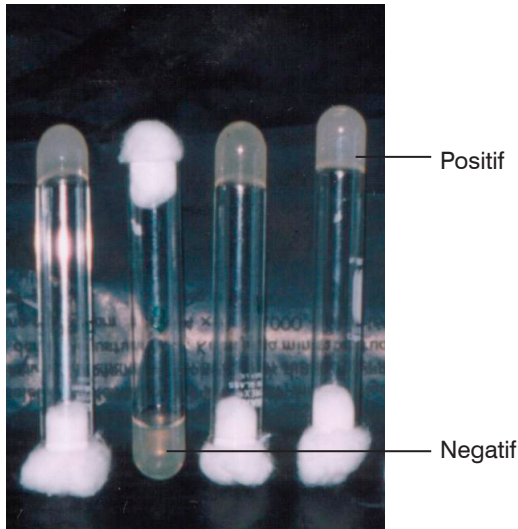
**Tabel 1.** Prevalensi mastitis pada peternakan sapi perah Surabaya

Peternakan Sapi Perah	Sampel sapi	Mastitis klinis	Mastitis subklinis	Normal
Surabaya	22	0	19	3

(Effendi, 2006)

## Identifikasi Isolat *Staphylococcus aureus* dan *Coagulase Negative Staphylococci*

Berdasarkan pada uji mikroskopis dan pewarnaan Gram, uji katalase, kemampuan fermentasi MSA, dan uji koagulase, maka isolat *Staphylococcus aureus* dan *Coagulase Negative Staphylococci* (CNS) yang merupakan pasangan isolat dari puting sapi perah yang sama berhasil diperoleh seperti pada Tabel 2 dan Gambar 1.



Gambar 1. Hasil uji koagulase

Tabel 2. Isolat *Staphylococcus aureus* dan CNS

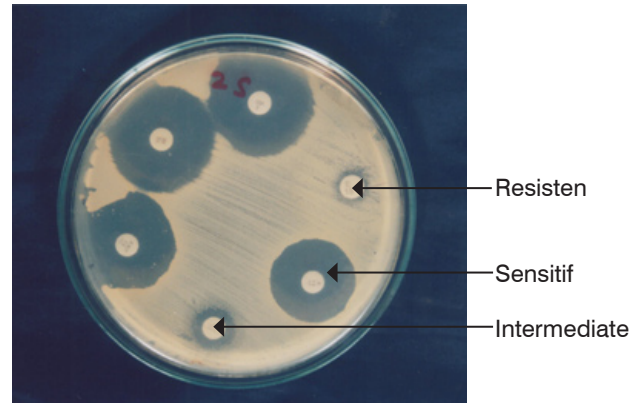
Nama Peternakan	<i>Staphylococcus aureus</i>	CNS
Surabaya	5	5

### Uji Sensitivitas Antibiotika pada *Staphylococcus aureus* dan *Coagulase Negative Staphylococci* (CNS)

Pemeriksaan ini menggunakan metode *disk diffusion* dari Kirby Bauer yang bertujuan untuk mengetahui tingkat resistensi *Staphylococcus aureus* dan CNS terhadap antibiotika pilihan untuk mengobati kasus infeksi oleh genus *Staphylococcus*. Hasilnya seperti Gambar 2 dan Tabel 3.

Tabel 3. Komparasi dari diameter (mm) zona *disk diffusion* antara pasangan isolat *S. aureus* dengan CNS dari puting sapi perah yang sama di Peternakan Sapi Perah di Surabaya

Antibiotika	<i>Staphylococcus aureus</i>	CNS
Ampisilin	25.72	26.67
Cephalexin	16.21	18.69
<b>Eritromisin</b>	<b>6.79</b>	<b>7.04</b>
Ciproxin	25.03	26.83
Tetrasiklin	26.24	27.44
Penisilin	25.56	26.67



Gambar 2. Zona resisten, zona intermediate dan zona sensitif pada uji sensitivitas antibiotika metode disk diffusion. (Effendi, 2006)

## PEMBAHASAN

Uji sensitivitas antibiotika mempunyai fungsi dalam pengobatan manusia maupun pada hewan. Utamanya, hal ini dapat digunakan untuk pilihan pengobatan antimikrobal dan lainnya untuk memonitor resistensi antimikrobal. Metode Kirby-Bauer yang menggunakan *agar disk diffusion* menghasilkan kategori yang bersifat kualitatif dengan penilaian sensitif, intermediate dan resisten (Thornsberry, 1991).

Perkembangan dari resistensi antibiotika dalam bakteri disebabkan dua hal, 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 aktivitas tekanan dalam sel yang mencegah akumulasi antibiotika di dalam sel (Wise, 1999). Mekanisme kenaikan tekanan dalam sel juga dapat mencegah akumulasi antibiotika dalam sel bakteri (Pechere, 2001).

Antibiotika betalaktam seperti penisilin, ampisilin dan *cephalosporines* sangat efektif terhadap *staphylococci* dan selalu dipakai sebagai obat pilihan untuk melawan infeksi. Bakteri Gram positif memproduksi dinding sel luar tebal yang terdiri dari *peptidoglycan* yang berguna untuk memproteksi bakteri dari sistem pertahanan hospes, yaitu

sistem komplemen atau pun kerusakan yang disebabkan tekanan osmotik (Hakenbeck dan Coyette, 1998). Karakteristik dari struktur cincin antibiotika betalaktam adalah mengikat *Penicillin binding Proteins (PBPs)* yang terkait dalam sintesis *peptidoglycan* dan menyebabkan pencegahan sintesis dinding sel. Resistensi terhadap betalaktam mungkin merupakan hasil dari degradasi enzimatis dari cincin betalaktam oleh betalaktamase atau rendahnya afinitas PBP (Vavra *et al.*, 2003).

Tetrasiklin sangat luas daya kerja yang meliputi hampir semua bakteri gram positif dan gram negatif yang patogen. Mekanisme kerjanya melalui penghambatan sintesis protein bakteri (Tjay dan Rahardja, 1986), eritromisin berkhasiat bakteriostatik terutama terhadap gram positif dengan mekanisme kerja melalui penghambatan sintesis protein bakteri (Tjay dan Rahardja, 1986), dan *ciproxin* termasuk golongan *fluoroquinolone* dengan daya kerja meliputi hampir semua bakteri gram positif dan gram negatif yang patogen dan mekanisme kerjanya melalui penghambatan dari *DNA gyrase* bakteri (Hooper, 2001).

Pada dasarnya mekanisme kerja antibiotika dibagi menjadi tiga (Sawant, 2005): 1) Penghambatan biosintesis dinding sel. Dinding sel bakteri mengandung *peptidoglycan*, merupakan rantai peptida dan *glycan* yang secara kovalen *cross-linked*. Hubungan tersebut memerlukan enzim *transpeptidase* untuk merapatkannya (Katayama *et al.*, 2003; Walsh, 2000). Antibiotika betalaktam (penisilin, ampicilin dan *cephalosporin*) mengikat enzim *transpeptidase* dan menghambat sintesis dinding sel. Enzim *transpeptidase* disebut juga *penicillin-binding proteins* (Walsh, 2000). 2) Penghambatan sintesis protein. Beberapa kelas antibiotika mampu untuk memengaruhi sintesis protein dalam ribosom (Sawant, 2005). Ribosom bakteri terdiri atas dua subunit, yaitu 50S dan 30S sub unit (Harms *et al.*, 2003). Antibiotika dapat menghambat sintesis protein dengan beberapa tipe antara lain penghambat kode protein atau *A-site*. Tetrasiklin mengikat *A-site* yang berarti mencegah perpindahan tRNA (Harms *et al.*, 2003), sedangkan eritromisin mengikat *polypeptide export tunnel* dan menghambat perpanjangan rantai polipeptida (Nicola *et al.*, 1998). 3) Penghambatan replikasi dan perbaikan DNA. *Fluoroquinolones* adalah antibiotika sintesis yang membunuh bakteri melalui target enzim DNA gyrase dan topoisomerase (Harms *et al.*, 2003). *DNA gyrase* adalah enzim yang bertanggung jawab untuk berhasilnya replikasi DNA. *Quinolones* mengikat enzim DNA gyrase sehingga replikasi DNA terganggu (Hooper, 2001).

Resistensi terhadap antibiotika di antara bakteri patogen telah meningkat dalam dekade terakhir ini.

Kebanyakan terkait dengan a) penggunaan yang berlebihan; b) penggunaan antibiotika spektrum luas yang tidak terkontrol; c) standar yang rendah untuk identifikasi bakteri penyebab infeksi; d) adanya transmisi dari *strain* yang resisten (Khachatourians, 1998; Sawant, 2005).

Resistensi terhadap antibiotika dapat diperoleh secara intrinsik dan secara perolehan. Resistensi intrinsik selalu ada dalam suatu bakteri (Thornsberry, 1991), sebagai contoh bakteri gram negatif resisten terhadap *cloxacillin* dan *vancomycin* yang disebabkan karena dinding sel gram negatif dilapisi oleh membran luar *lipoprotein-liposaccharide-phospholipid* yang mencegah dinding sel dari beberapa antibiotika dan enzim *lysozyme*. Peningkatan gejala klinis yang nyata merupakan resistensi perolehan bakteri yang sebelumnya sensitif menjadi resisten. Bakteri dapat memperoleh resistensi melalui mutasi kromosom atau mendapat materi genetik seperti plasmid atau *transposons* yang mengandung gen resisten terhadap antibiotika. Perpindahan plasmid resistensi dari mikroorganisme satu ke mikroorganisme lainnya dapat menyebarkan resistensi secara luas. Perubahan pola resistensi dapat terjadi setelah bakteri terpapar oleh antibiotika yang lama atau dapat muncul selama pengobatan penyakit infeksi (Levy, 2002; Sawant, 2005).

Perpindahan gen horizontal adalah mekanisme yang memungkinkan bakteri untuk menggunakan materi genetik secara bersama yang menyebabkan perpindahan resistensi antibiotika (Walsh, 2000; Rice, 2000). Ada tiga proses yang terlibat dalam perpindahan gen secara horizontal, yaitu: *conjugation*, *transduction* dan *transformation* (Walsh, 2000; Rice, 2000).

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 laporan Siswanto dan Effendi (2007) yang menerangkan bahwa isolat *Staphylococcus aureus* dan *Coagulase Negative Staphylococci (CNS)* dari Surabaya 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.

Eritromisin adalah sebuah antibiotika makrolida yang juga sering digunakan pada pengobatan *intramamary* masa laktasi ataupun masa kering. (Nicola *et al.*, 1998). *Staphylococcus aureus* membentuk formasi subunit ribosom

dan salah satunya adalah 50S subunit ribosom. Eritromisin mencegah terbentuknya 50S ribosom. Penghambatan translasi terkait dengan aktivitas *peptidyltransferase* dari 50S subunit (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 dan Novick, 1979) yang mengindikasikan perpindahan resistensi obat yang dimediasi oleh *transposon*.

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

Meskipun perpindahan resistensi antara strain *Staphylococcus aureus* dalam percobaan laboratorium bisa terjadi via *transformation*, *transduction* dan *conjugation* (Walsh, 2000; Lacey, 1975), namun hanya *conjugation* yang tampak secara signifikan secara *in vivo* (McGowan, 1991). Studi dengan strain *staphylococcal* yang diisolasi dari manusia mengindikasikan bahwa gen resistensi antibiotika *Staphylococcus epidermidis* dapat dipindahkan ke *Staphylococcus aureus* dalam kondisi *in vivo* maupun *in vitro* (Forbes dan Schaberg, 1983).

Hasil pembahasan secara keseluruhan dari penelitian ini dapat disimpulkan sebagai hal berikut: Uji sensitivitas antibiotika memperlihatkan ke-5 pasangan isolat *Staphylococcus aureus* dan *Coagulase Negative Staphylococci* dari puting sapi perah yang sama menunjukkan kesamaan resisten terhadap antibiotika eritromisin yang berarti terjadinya **horizontal transfer of resistance genes** antara isolat *Staphylococcus aureus* dan *Coagulase Negative Staphylococci* di dalam ambung sapi perah tersebut.

## KEPUSTAKAAN

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 dan Schaberg DR, 1983. Transfer of Resistance Plasmids from *Staphylococcus epidermidis* to *Staphylococcus aureus*: evidence of Conjugative Exchange of Resistance. *J. Bacteriol.* 153: 627–34.
- Hakenbeck R dan Coyette J, 1998. Resistant penicillin-binding proteins. *Cell. Mol. Life.* 54: 332.
- Harms JM, Bartels H, Schlunzen F, dan Yonath A, 2003. Antibiotics acting on the translational machinery. *J. Cell. Sci.* 116: 1391–3.
- Heinrichs AJ, Wells SJ, dan Losinger WC, 1995. A Study on the Use of Milk Replacers for Dairy Calves in the United States. *J. Dairy Sci.* 78: 2831–7.
- Hooper DC, 2001. Emerging Mechanisms of Fluoroquinolone Resistance. *Emerging Infect. Dis.* 7: 337–41.
- Katayama Y, Zhang HZ, dan Chambers HF, 2003. Effect of Disruption of *Staphylococcus aureus* PBP4 Gene on Resistance to  $\beta$ -Lactam Antibiotics. *Microb. Drug Resist.* 9: 329–36.
- Khachatourians GG, 1998. Agricultural Use of Antibiotics and The Evaluation and Transfer of Antibiotic Resistant Bacteria. *CMAJ* 159: 1129–36.
- Khan SA, Nawez MS, Khan AA, dan 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.
- Levy SB, 2002. Factors impacting on the problem of antibiotic resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* 49: 25–30.
- Lopez-Lozano JM, Monnet DL dan 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, dan Skurray RA, 1987. *Antimicrobial Resistance of Staphylococcus aureus: Genetic Basis*. *Microbiol. Rev.* 51: 88–134.
- McAllister, T.A., Yanke LJ, Inglis GD, dan Olson ME, 2001. Is antibiotic use in dairy cattle causing antibiotic resistance. *Adv. Dairy technol.* 13: 229–47.
- McGowan JE Jr., 1991. Abrupt Changes in Antibiotic Resistance. *J. Hosp. Infect.* 18: 202–10.
- Morin DE dan Hurley WL, 2003. *Mastitis Lesson B*. University of Illinois, USA.
- Nicola FG, McDougal LK, Biddle JW, dan Tenover FC, 1998. Characterization of Erythromycin-Resistant Isolates of *Staphylococcus aureus* Recovered in the United States from 1958 through 1969. *Antimicrob Agents Chemother.*, 42: 3024–7.
- Pechere JC, 2001. Macrolida resistance mechanism in Gram positive cocci. *Intl. J. Antimicrob. Agents.* 18: S25.
- Philipps S, dan Novimck RP, 1979. Tn554 a site specific repressor-controlled transposon in *Staphylococcus aureus*. *Nature* 278: 476–8.

- Rahardjo D, Kataoka N, Wasito EB, dan Alimsardjono L, 1999. *Enteropathogenic Bacteria from Raw Meat and Its Susceptibility Against Antimicrobial Agents*. Proc. Seminar on Infect. Dis. In the Tropics, Surabaya.
- Rice LB, 2000. Bacterial monopolists: The Bunding and Dissemination of antimicrobial Resistance genes in Gram Positive Bacteria. *Clin Infect Dis.* 31: 762–9.
- Sawant AA, 2005. Descriptive and Molecular Epidemiology of Antibiotic Resistant Gram Negative Enteric Bacteria from Dairy Cattle. *Thesis*, The Pennsylvanis State University, USA.
- Thomsberry C, 1991. Antimicrobial susceptibility testing: general considerations. In: *Manual of Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology, 1059–1064.
- Tjay TH dan Rahardja K, 1986. *Obat-obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek sampingnya*. PT Kimia Farma, Jakarta.
- Vavra SB, Yin S, Challapalli M, dan Daum RD, 2003. Transcriptional Induction of the Penicillin-Binding Protein 2 Gene in *Staphylococcus aureus* by Cell Wall Active Antibiotics Oxacillin and Vancomycin. *J. Antimicro. Agents and Chemother.* 47: 1028–36.
- Walsh C, 2000. Molecular mechanisms that Confer Antibacterial Drug Resistance. *Nature* 404: 775–81.
- Wise R, 1999. A review of the mechanisms of action and resistance of antimicrobial agents. *Can. Resp. J.* 6 Suppl: 20A.

Reviewer: **Dr. Abinawanto**