

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Susu

Susu adalah salah satu hasil ternak perah menyusui seperti sapi perah, kambing perah dan kerbau perah yang dikenal sebagai bahan makanan bernilai gizi tinggi. Susu mengandung berbagai jenis zat gizi. Kandungan zat gizi susu dinilai lengkap dan dalam proporsi seimbang seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral, dan vitamin yang sangat dibutuhkan oleh manusia. Oleh karena itu, susu bermanfaat menunjang pertumbuhan dan kesehatan tubuh, baik bagi anak-anak, remaja, maupun orang dewasa (Legowo 2002, Saleh 2004).

Susu merupakan media yang sangat cocok bagi pertumbuhan bakteri sehingga dapat menjadi sarana potensial bagi penyebaran bakteri patogenik (*milkborne pathogens*) yang mudah tercemar sepanjang penanganannya tidak memperhatikan kebersihan (Harpini 2008). Pencemaran pada susu oleh bakteri patogenik maupun non-patogenik dapat berasal dari sapi itu sendiri, peralatan pemerahan, ruang penyimpanan yang kurang bersih, debu, udara, lalat, dan penanganan yang salah oleh manusia (Roumbaut 2005).

2.1.1 Komposisi Gizi Susu

Menurut Saleh (2004) komposisi gizi dari susu sapi yaitu air 87,5%, lemak 3,9%, laktosa 4,9%, mineral 0,65%, enzim, fosfolipid, dan beberapa jenis vitamin. Komposisi kimia tersebut dapat bervariasi dan dapat dipengaruhi oleh fisiologi sapi, umur sapi, pakan sapi, waktu pemerahan dan laktasi (Mukhtar 2006). Adanya berbagai senyawa kimia di dalam susu selain menentukan sifat

kimiawinya, juga berpengaruh terhadap sifat fisik susu. Secara umum susu tampak sebagai cairan berwarna putih sedikit kekuningan atau kebiruan serta mempunyai rasa gurih khas sedikit manis. Sifat fisik susu yang lain dapat ditunjukkan oleh beberapa variabel seperti kekentalan, bobot jenis, dan titik bekunya (Legowo 2002).

2.1.2. Mikrobiologi Susu Sapi

Adanya pertumbuhan bakteri pada susu dapat menurunkan mutu dan keamanan pangan susu yang ditandai oleh perubahan rasa, aroma, warna, konsistensi dan penampilan. Cemaran bakteri patogenik juga mengakibatkan kerusakan yang tidak diinginkan, sehingga susu menjadi tidak layak untuk dikonsumsi (Balía *et al.* 2008). Tingginya tingkat pencemaran pada saat proses pemerahan dimungkinkan karena adanya mikroorganisme patogen yang cukup banyak. Mikroorganisme dapat mengakibatkan kerusakan susu, menimbulkan penyakit (terutama penyakit saluran pencernaan) serta keracunan pada manusia (Murdiati *et al.* 2004).

Mikroorganisme yang sering terdapat pada susu sapi adalah *Streptococcus lactis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Aerobacter aerogenes*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, dan *Bacillus* (Djaafar & Siti 2007, Jawetz & Adelberg's 2010). Keberadaan *S. aureus* dalam bahan pangan erat kaitannya dengan sanitasi pekerja serta kebersihan lingkungan dan peralatan pengolahan (Stewart *et al.* 2003). Bakteri *S. aureus* terdapat luas di alam dan pada bahan baku pangan sehingga penanganan yang kurang tepat dapat meningkatkan risiko keracunan pangan akibat *S. aureus* (Robinson *et al.* 2000).

Kontaminasi bakteri *S.aureus* dalam pangan yang mengandung nutrisi dapat menunjang pertumbuhannya, jumlah *S. aureus* akan bertambah dengan laju pertumbuhan yang cepat. Bahan pangan yang menyediakan nutrisi yang menunjang pertumbuhan *S. aureus* adalah bahan pangan dengan kadar protein yang tinggi seperti daging dan produk olahannya, unggas dan produk olahannya, telur dan produk olahannya, salad yang mengandung telur, tuna, ayam, kentang dan makaroni, produk *bakery*, serta susu dan produk olahannya (US FDA, 1999). Hal ini disebabkan adanya 11 asam amino yaitu valin, leusin, threonin, phenilalanin, tirosin, sistein, metionin, lisin, prolin, histidin dan arginin pada produk-produk berprotein tinggi yang mendukung optimasi pertumbuhan *S. aureus* (Supardi dan Sukamto, 1999).

2.1.3. Dampak Kontaminasi Bakteri Pada Susu

Penyakit akibat pangan (*food borne diseases*) yang terjadi segera setelah mengkonsumsi pangan, umumnya disebut dengan keracunan. Produk pangan dapat menjadi beracun dikarenakan telah terkontaminasi oleh bakteri patogen yang kemudian dapat tumbuh dan berkembang biak sehingga mampu memproduksi toksin yang dapat membahayakan manusia. Keracunan pangan oleh bakteri dapat berupa intoksifikasi atau infeksi. Intoksifikasi disebabkan oleh adanya toksin bakteri yang terbentuk di dalam makanan pada saat bakteri bermultiplikasi, sedangkan keracunan pangan berupa infeksi disebabkan oleh masuknya bakteri ke dalam tubuh melalui makanan yang terkontaminasi dan tubuh memberikan reaksi terhadap bakteri tersebut (Saleh 2004, BPOM 2008). Terdapat dua jenis intoksifikasi makanan yang disebabkan oleh bakteri yaitu

botulisme yang disebabkan karena adanya toksin dalam makanan yang dihasilkan oleh bakteri *Clostridium botulinum* dan intoksifikasi lain yaitu stafilokokkal yang disebabkan oleh enterotoksin dari bakteri *S. aureus*. Kasus intoksikasi akibat mengonsumsi makanan atau minuman yang mengandung toksin dapat menyebabkan mual, muntah, dan diare (BPOM 2008).

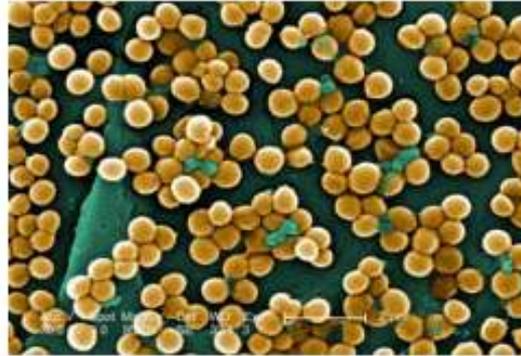
2.2. *Staphylococcus aureus*

2.2.1. Definisi Umum

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif, berbentuk bulat (*coccus*), berdiameter 0,8-1,0 μm dan bergerombol seperti buah anggur (lihat Gambar 1), non motil, tidak berspora, bersifat anaerob fakultatif, menghasilkan koagulase, membentuk pigmen kuning keemasan pada media *nutrient agar* serta memfermentasi glukosa dan *mannitol*. Bakteri *S. aureus* tahan terhadap lisozim, suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah 35-37⁰C, dengan suhu minimum 6,7⁰C dan maksimum 45,5⁰C. Bakteri tersebut dapat tumbuh pada pH optimum sekitar 7,0-7,5 (*Public Health England* 2014).

Menurut Syahrurahman *et al.* (2010) klasifikasi *S.aureus* adalah sebagai berikut :

Domain	: <i>Bacteria</i>
Kingdom	: <i>Eubacteria</i>
Phylum	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Order	: <i>Bacilalles</i>
Family	: <i>Staphylococceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 1. Morfologi *Staphylococcus aureus* perbesaran 5000X
(Sumber : Todar 2008)

Menurut Yuswari (2006) *S. aureus* merupakan flora normal pada manusia terutama ditemukan pada saluran pernafasan bagian atas dan kulit. Todar (2005) menyatakan bahwa *S. aureus* mempunyai ciri-ciri yang khas antara lain adanya sifat hemolitik pada media agar darah, oksidase negatif, tumbuh pada suhu 15-45°C dalam garam NaCl dengan konsentrasi hingga 15%. Bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan infeksi baik pada manusia maupun pada hewan. Bakteri ini tumbuh baik pada suhu tubuh manusia dan juga pada pangan yang disimpan pada suhu kamar. Bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan infeksi pada kulit dan radang sendi pada ayam, sedangkan pada manusia bakteri ini dapat menyebabkan penyakit yang berkaitan dengan *toxic shock syndrome* sebagai akibat dari keracunan pangan (Khusnan *et al.* 2008).

2.2.2. Karakteristik *S.aureus*

Karakteristik bakteri *S. aureus* adalah pembentukan pigmen koloni yang umumnya berwarna kuning keemasan dan β -hemolisis positif pada media *blood agar*. Kedua karakter tersebut juga dimiliki strain *Staphylococcus epidermidis*, tetapi terdapat karakter yang membedakan *S. aureus* dengan *Staphylococcus*

epidermidis yaitu kemampuannya memproduksi nuklease tahan panas (Ash 2000). Bakteri *S. aureus* termasuk ke dalam kelompok bakteri mesofilik, namun terdapat beberapa galur *S. aureus* yang mampu tumbuh pada suhu rendah 6-7°C. Pada umumnya, *S. aureus* tumbuh pada kisaran suhu 7-48°C dengan suhu optimum pertumbuhan 30-37°C. Kisaran pH pertumbuhan antara 4.5 hingga 9.3 (Bennet & Monday 2003).

Berdasarkan aktivitas air (aw), stafilocoki mampu tumbuh pada kadar aw yang lebih rendah dibandingkan dengan bakteri nonhalofilik lainnya. Pertumbuhan stafilocoki tetap terjadi pada aw 0.83 yang merupakan kondisi di bawah ideal untuk pertumbuhan kebanyakan bakteri. Umumnya strain *S. aureus* mempunyai toleransi tinggi terhadap konsentrasi garam dan gula. Bakteri ini masih dapat bertahan hidup pada konsentrasi natrium klorida lebih dari 15% dan memiliki toleransi tinggi terhadap komponen-komponen seperti telurit, merkuri klorida, neomycin, polymixin dan sodium azida, yang semuanya dapat digunakan sebagai media selektif *S. aureus* (Le Loir *et al.*, 2003). Bakteri *S. aureus* banyak menyebabkan variasi infeksi pada manusia maupun infeksi yang diperoleh dari rumah sakit (*nosokomial*). Infeksi oleh bakteri *S. aureus* dapat berupa infeksi tenggorokan, pneumonia, meningitis, keracunan makanan, berbagai infeksi kulit, dan impetigo. Penyebaran penyakit ini cukup tinggi di daerah endemik (FKUI 2002, Radji 2011).

Bakteri ini mampu memanfaatkan berbagai komponen organik sebagai nutrisi untuk pertumbuhannya. Asam-asam amino dibutuhkan sebagai sumber nitrogen, sedangkan tiamin dan asam nikotinat paling dibutuhkan diantara vitamin

B lainnya. Apabila bakteri *S. aureus* ditumbuhkan pada kondisi cenderung anaerob, maka urasil sangat dibutuhkan. Sedangkan untuk kondisi aerob dan produksi enterotoksin, maka monosodium glutamat berperan sebagai sumber C, N dan energi. Arginin merupakan asam amino esensial yang dibutuhkan untuk produksi enterotoksin B (Bennet & Monday 2003, Jay 2000).

2.2.3. Faktor-Faktor Virulensi *S.aureus*

Menurut Pelchzar (2012) kemampuan suatu mikroorganisme patogenik untuk menyebabkan infeksi tidak hanya dipengaruhi oleh sifat mikroba itu sendiri, tetapi kemampuan inang dalam menahan infeksi atau membentuk kekebalan. Kemampuan suatu mikroba dalam menyebabkan infeksi disebut virulensi, sedangkan komponen-komponen yang dimiliki oleh suatu mikroba dapat meningkatkan patogenitas disebut faktor virulensi. Faktor virulensi *S. aureus* terdiri atas antigen (*capsule* dan *adhesins*), enzim (*coagulase*, *lipase*, *hyaluronidase*, *staphylokinase*, dan *nuclease*), serta sebanyak 7 toksin yaitu α -toksin, β -toksin, δ -toksin, P-V Leukocidin, enterotoksin, exfoliatif toksin, dan *toxic shock syndrome toxin* (TSST) (Yarwood *et al.* 2002).

Bakteri *S. aureus* memiliki beberapa jenis faktor virulensi yang mendukung terjadinya penyakit pada tubuh manusia, salah satunya adalah protein permukaan yang membantu kolonisasi pada jaringan inang. Penyebaran pada jaringan akan menghasilkan invasin, seperti leukosidin, kinase dan *hyaluronidase*. Leukosidin adalah sitotoksin yang dapat membunuh leukosit, sedangkan *hyaluronidase* adalah enzim yang dapat mendegradasi asam hyaluronat sehingga meningkatkan permeabilitas jaringan (Todar 2008).

Enterotoksin merupakan salah satu faktor virulensi yang dihasilkan oleh strain *S. aureus* dan umumnya sebagai penyebab keracunan makanan. Toksin tersebut dikaitkan sebagai penyebab kasus *foodborne disease* di berbagai belahan dunia. *Staphylococcal enterotoksin* (SE) adalah kelompok protein globular, diproduksi oleh sel bakteri selama pertumbuhan, dengan bobot molekul 28.000-35.000 dalton. SE merupakan agen yang menyebabkan sindrom keracunan dalam makanan baik pada manusia maupun hewan (Dinges *et al.* 2000, Omoe *et al.* 2002).

Bakteri *S.aureus* menghasilkan sembilan jenis enterotoksin yaitu A, B, C, D, E, G, H, I, dan J namun hanya SEA, SEB, SEC, SED, dan SEE yang hingga saat ini dapat dideteksi dengan peralatan komersial (Tamarapau *et al.* 2001, Ikeda *et al.* 2005). Enterotoksin stabil terhadap panas, air, dan garam terlarut (Thomas *et al.* 2007). *Staphylococcal* Enterotoksin A (SEA) merupakan polipeptida yang terdiri atas 233 asam amino dan disintesis dari gen *sea*, yang tersusun atas 4.143 pasang basa. Gen *sea* dibawa oleh bakteriofag yang disisipkan pada kromosom bakteri sebagai profag dan berperilaku seperti bagian dari genom bakteri. Transkripsi *sea* berkaitan dengan siklus hidup dari profag penyandi SEA (Schelin *et al.* 2011). Menurut Derzelle *et al.* (2009) menunjukkan bahwa ekspresi *sea* tidak dipengaruhi oleh pertumbuhan bakteri (Fujikawa dan Morozumi 2006). SEA mulai diproduksi pada pertengahan fase eksponensial pertumbuhan (Balaban & Rasooly 2000). Jawetz *et al.* (2010) menyatakan bahwa enterotoksin dihasilkan ketika *S.aureus* tumbuh pada makanan mengandung karbohidrat dan protein. Faktor lingkungan yang mempengaruhi pembentukan SE memiliki batas yang

berbeda dengan batas faktor yang mempengaruhi pertumbuhan *S. aureus* (Tabel 2).

Tabel 2. Faktor yang Mempengaruhi Produksi Stafilocoki Enterotoksin

Faktor	Batas Pembentukan SE	Pembentukan SE Optimum
Suhu	10-46°C	34-40°C
pH	5-9.6	7-8
aW	0.86 – 0.99	0.99
NaCl	< 12%	0 %
Oksigen	Anaerob- aerob	Aerob

Sumber : Schelin, 2011

Keracunan yang disebabkan oleh bakteri ini tergolong dalam kasus intoksikasi, yaitu tertelannya enterotoksin yang dihasilkan oleh *S. aureus* pada pangan. Menurut Pelczar dan Chan (2005), gejala umum keracunan enterotoksin stafilocoki berupa mual, pusing, muntah dan diare. Jumlah toksin *S.aureus* yang diperlukan untuk menyebabkan keracunan pangan sebesar 1.0 µg – 25 µg (US FDA 2001, Jawetz *et al.* 2010). Gejala keracunan dapat terlihat 30 menit hingga 8 jam setelah mengonsumsi makanan yang mengandung toksin tersebut (Blackburn dan Mc Clure, 2002). Pada bayi, orang tua, dan individu yang sedang sakit jumlahnya dapat berkurang. Gejala muncul 2 - 4 jam dengan variasi dari 30 menit sampai 8 jam dan secara langsung berkaitan dengan potensi dan jumlah toksin yang tertelan serta resistensi individu. Penyakit berakhir kurang lebih setelah 1 - 2 hari dan jarang menimbulkan kematian (Yuswari 2006).

Menurut Yuswari 2006, terdapat dua mekanisme dalam kasus keracunan makanan oleh *S. aureus* yaitu :

- a. Toksin secara langsung bekerja pada sel mukosa *jejunum* dan pada mitokondria dari sel-sel ini. Rangsangan muntah terjadi dari organ *visceral* dan syaraf sensoris hingga mencapai pusat muntah melalui nervus vagus.

- b. Kemampuan dari enterotoksin dalam merangsang proliferasi sel T bekerja sebagai antigen.

Aktivitas enterotoksin *S. aureus* pada sel epitel usus bersifat *cytotoxic*, yaitu tidak menyebabkan kerusakan pada membran sel tetapi menyebabkan peningkatan pembentukan *messenger intraseluler* yang dapat meningkatkan sekresi dan menyebabkan diare (Yuswari 2006).

2.3. Deteksi Gen

Penelitian mengenai deteksi gen *staphylococcal enterotoxin A (sea)* telah banyak dilakukan di dunia dan di Indonesia. Deteksi gen toksin *S. aureus* dari susu sapi yang terbukti mastitis juga dilakukan oleh Akineden *et al.* (2001) yang dilakukan di Jerman. Penelitian tersebut mendeteksi gen toksin *S. aureus* diantaranya gen koagulase, *clumping factor*, *Staphylococcal enterotoxin* (SEA, SEC, SED, SEG, SEI dan SEJ), TSST-1, *spa-IgG* dan *spa-X region* menggunakan metode PCR. Deteksi gen *sea* ditemukan dengan panjang spesifik 521 bp. Deteksi gen-gen toksin ini juga dibandingkan dengan ekspresinya secara fenotipe. Penelitian tersebut berhasil mendeteksi *S. aureus* secara langsung dari susu segar dengan ekstraksi DNA dan analisis gen 23S rRNA menggunakan PCR, sementara isolasi dan identifikasi *S. aureus* secara konvensional tetap dilakukan.

Penelitian yang dilakukan oleh Budi Prasetyo (2013) yang dilakukan untuk mendeteksi gen enterotoksin dan exofoliatif asal isolat *S.aureus* susu sapi perah dan susu kambing yang berasal dari desa Cijeruk Bogor menggunakan design primer khusus untuk mengamplifikasi gen 23rRNA memberikan hasil positif pada

2 isolat yang ditandai dengan munculnya fragmen DNA dengan panjang spesifik 120bp untuk *sea*.

2.3.1. Polymerase Chain Reaction (PCR)

Menurut US FDA (2001), terdapat beberapa tahap dalam mendeteksi bakteri patogen yaitu pra pengkayaan, pengkayaan, isolasi, identifikasi dan konfirmasi baik secara serologi ataupun dengan metode molekular. Selama beberapa tahun terakhir telah berkembang sejumlah metode baru dalam identifikasi mikroba patogen pada produk pangan. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi gen yaitu dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR adalah suatu reaksi untuk menggandakan jumlah molekul *Deoxyribonucleat Acid* (DNA) pada target tertentu dengan cara mensintesis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target tersebut dengan bantuan enzim dan oligonukleotida sebagai primer dalam satu *thermocycler* (Campbell 2004).

Keunggulan dari metode PCR didasarkan atas spesifitas, efisiensi dan keakuratannya. Spesifitas PCR terletak pada kemampuannya mengamplifikasi sehingga menghasilkan produk melalui sejumlah siklus. Keakuratan yang tinggi karena DNA polymerase mampu menghindari kesalahan pada amplifikasi produk (Mahardika 2005). Teknik ini menggunakan sepasang primer yang merupakan oligonukleotida yang berperan untuk mengawali proses amplifikasi molekul DNA. Keberadaan primer PCR tersebut menyebabkan gen target akan teramplifikasi sepanjang reaksi PCR berlangsung. Analisis PCR dengan primer spesifik merupakan langkah terbaik untuk kepentingan deteksi bakteri patogen

karena dapat menghasilkan penentuan secara cepat keberadaan gen target, cukup sensitif dan mudah digunakan dalam kegiatan rutin (Aris 2011).

Menurut Yuwono (2006) terdapat empat komponen utama pada PCR meliputi DNA Cetakan, yaitu fragmen DNA yang akan dilipatgandakan, Oligonukleotida primer, yaitu suatu sekuen oligonukleotida pendek (15-25 basa nukleotida) yang digunakan untuk mengawali sintesis rantai DNA, Dioksiribonukleotida trifosfat (dNTP) terdiri atas dATP, dCTP, dGTP, dTTP dan Enzim DNA Polimerase yaitu suatu enzim yang melakukan katalis reaksi sintesis rantai DNA dan komponen lain yang juga penting adalah senyawa buffer PCR, magnesium klorida ($MgCl_2$). Teknik PCR dapat mengeksploitasi berbagai sifat alami replikasi DNA. Dalam proses tersebut, *Polimerase-DNA* menggunakan DNA untai tunggal sebagai cetakan (*template*) untuk mensintesis untai baru yang komplementer. Cetakan untai tunggal dapat diperoleh melalui pemanasan DNA untai ganda pada temperatur mendekati titik didih. *Polimerase-DNA* juga memerlukan suatu wilayah untai ganda pendek untuk memulai (*prime*) proses sintesis. Pada saat PCR, posisi awal dan akhir sintesis DNA dapat ditentukan dengan menyediakan suatu oligonukleotida sebagai primer yang menempel secara komplementer pada cetakan sesuai dengan keinginan peneliti. Salah satu keunggulan PCR adalah *polymerase DNA* dapat diarahkan untuk sintesis wilayah DNA tertentu (Mahardika 2005).

Menurut Muladno (2002), terdapat 3 tahap dalam teknik PCR meliputi :

a. Tahap Denaturasi

Pada tahap ini, *double-stranded* DNA (dsDNA) didenaturasi menjadi *single-stranded* DNA (ssDNA). Faktor utama yang mempengaruhi tahapan ini adalah *melting temperature* atau suhu yang diperlukan dari untai *double helix* DNA untuk dapat terdenaturasi menjadi ssDNA. Suhu yang diperlukan ditentukan berdasarkan komponen nukleotida terutama komponen guanin-citosin (GC), hal ini dikarenakan komponen GC memiliki ikatan hidrogen yang lebih kuat sehingga memerlukan energi yang lebih besar untuk terdisosiasi dibandingkan ikatan hidrogen pada nukleotida adenin-timin. Denaturasi awal umumnya dilakukan pada suhu 94°C selama 6 sampai 8 menit (Bartlett *et al.* 2003).

b. Tahap *Annealing*

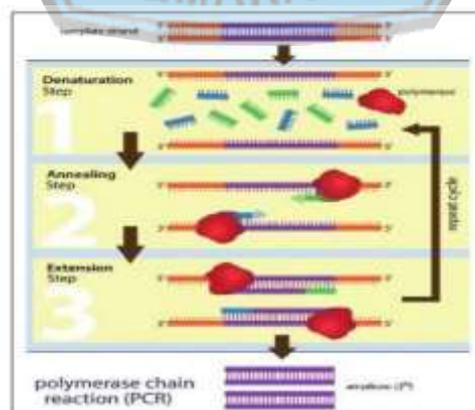
Pada tahap ini, DNA yang telah terdenaturasi menjadi ssDNA akan mengalami proses *annealing* yaitu primer oligonukleotida akan menempel pada sekuen target secara spesifik. Suhu yang digunakan pada tahap ini ditentukan melalui optimasi. Tahap *annealing* berlangsung selama 1 sampai 2 menit (Barlett *et al.* 2003).

c. Tahap *Extensi*

Setelah primer menempel pada sekuen target, maka terjadi pemanjangan (polimerasi) utai DNA komplementer sehingga dihasilkan salinan sekuen DNA target atau yang disebut dengan ampikon. Proses polimerasi tersebut

merupakan tahapan ekstensi. Tahapan ini ditentukan oleh dua faktor utama yaitu suhu dan panjang ekstensi.

Faktor suhu berkaitan dengan aktifitas optimum DNA polimerase dan panjang ekstensi ditentukan berdasarkan aktifitas DNA polimerase dan panjang sekuen target. Secara umum, tahap ekstensi dilakukan pada suhu 72°C dengan waktu 1 menit per kilo pasang basa (kbp) nukleotida. Waktu ekstensi bersifat spesifik untuk tiap reaksi dan ditentukan melalui optimasi, sehingga dengan adanya pengulangan siklus PCR maka jumlah amplicon yang akan dihasilkan dari satu molekul DNA target dinyatakan dengan 2^x yang mana x menyatakan jumlah siklus PCR yang dilakukan. Reaksi-reaksi tersebut di atas diulangi lagi dari 25 sampai 30 kali (siklus) sehingga pada akhir siklus akan diperoleh molekul-molekul DNA rantai ganda baru yang merupakan hasil polimerasi dalam jumlah jauh lebih banyak dibandingkan dengan jumlah DNA cetakan yang digunakan (Barlett *et al.* 2003). Tahapan dalam teknik PCR dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Tahapan dalam Teknik PCR (Barlett *et al.* 2003)

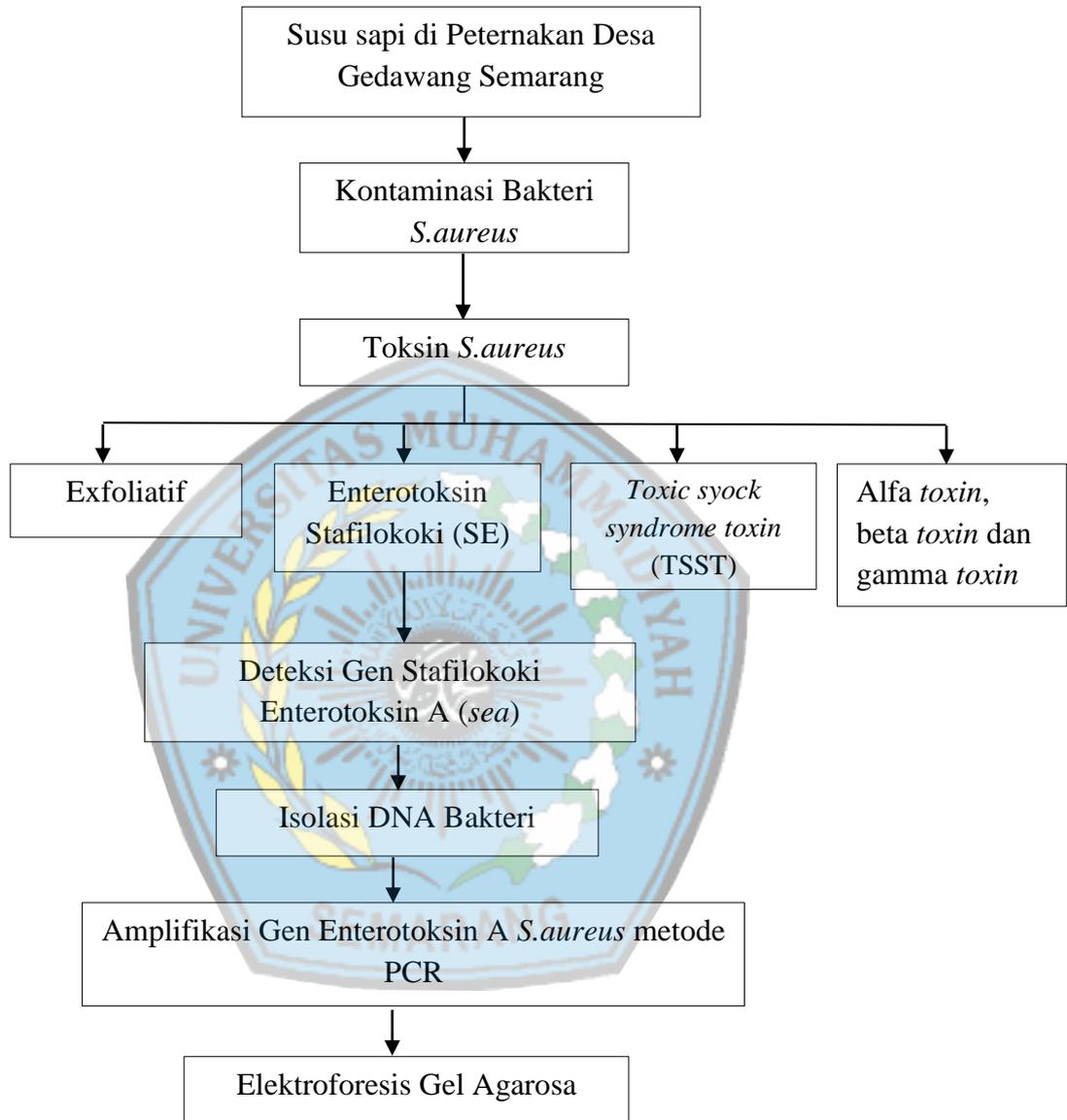
2.3.2. Elektroforesis Gel Agarosa

Elektroforesis gel dikenal sebagai teknik untuk memisahkan dan mengidentifikasi makromolekul seperti DNA, RNA dan protein berdasarkan berat, ukuran atau titik isoelektriknya. Pemisahan antara molekul dengan teknik elektroforesis ini berdasarkan muatan molekul yang bermigrasi melalui matriks gel (Giot 2010). Pada teknik ini memanfaatkan muatan listrik yang ada pada makromolekul misalnya DNA yang bermuatan negatif. Apabila molekul bermuatan negatif dilewatkan melalui suatu medium, misalnya gel agarosa kemudian dialiri arus listrik dari satu kutub ke kutub yang berlawanan muatannya, maka molekul tersebut akan bergerak dari kutub negatif ke kutub positif. Selain bergantung pada rasio muatan terhadap massa molekul, kecepatan gerak molekul tersebut juga dapat dipengaruhi oleh bentuk molekul, tegangan listrik (voltase) yang digunakan dan sifat medium (Yuwono 2006).

Elektroforesis dengan medium gel agarosa atau poliakrilamid merupakan metode standar untuk pemisahan, identifikasi dan pemurnian fragmen DNA. Agarosa merupakan polisakarida yang diperoleh dari alga merah yang memiliki daya pemisahan lebih rendah jika dibandingkan dengan gel poliakrilamid namun memiliki rentang pemisahan yang lebih besar. DNA dengan ukuran 100 bp hingga 10 kpb dapat dipisahkan dengan menggunakan gel agarosa pada berbagai konsentrasi (Pelt-Verkuill *et al.* 2008).

2.4. Kerangka Teori

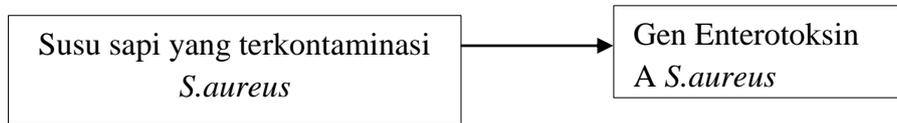
Kerangka teori penelitian disajikan pada Gambar 3 :



Gambar 3. Kerangka Teori Deteksi Gen Enterotoksin A *S.aureus* Pada Susu Sapi Murni

2.5. Kerangka Konsep

Kerangka Konsep pada penelitian ini pada Gambar 4 :



Gambar 4. Kerangka Konsep Deteksi Gen Enterotoksin A *S.aureus* Pada Susu Sapi Murni

