

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN	iv
PRAKATA	v
DAFTAR SINGKATAN	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
ABSTRAK.....	xix
ABSTRACT	xxi
PENDAHULUAN	1
Latar Belakang.....	1
Permasalahan	5
Tujuan Penelitian.....	5
Manfaat Penelitian.....	6
Keaslian Penelitian	7
TINJAUAN PUSTAKA	11
<i>Staphylococcus aureus</i>	11
Stafilokokal Enterotoksin (SE).....	12
Metode Diagnosa Stafilokokal Enterotoksin	16
Ekspresi Protein Rekombinan.....	20
Poliklonal Antibodi.....	21
<i>Immunoblotting</i>	22
Biosensor	23
Landasan Teori	26
Hipotesis	30

MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	31
Tempat Penelitian	31
Sampel Penelitian	31
Bahan dan Alat Penelitian	32
Metode Penelitian	35
Penelitian Tahap 1: Identifikasi molekular isolat manusia dan hewan...	35
Amplifikasi gen 23SrRNA, gen <i>nuc</i> dan gen <i>coa</i>	37
Amplikasi gen pengkode klasik dan new enterotoksin pada isolat <i>S. aureus</i> asal manusia dan hewan.....	38
Amplifikasi gen <i>sea</i> pada isolat <i>S. aureus</i> asal manusia dan hewan	41
Penelitian Tahap 2: Analisis protein rSEA dan produksi antibodi poliklonal terhadap rSEA	42
Analisis rSEA dengan menggunakan SDS-PAGE.....	42
Produksi antibodi poliklonal anti-rSEA.....	43
Imunisasi antigen protein rekombinan SEA pada mencit <i>Balb/c</i>	43
Panen antibodi poliklonal terhadap rSEA	44
Optimasi dan pengukuran nilai absorbansi serum mencit.....	44
Karakterisasi antibodi poliklonal terhadap rSEA	45
Uji <i>immunoblotting (Western blot)</i>	45
Penelitian Tahap 3: Evaluasi antibodi poliklonal rSEA terhadap SEA skala laboratorium dan skala lapangan.....	46
Deteksi SEA skala laboratorium	47
Preparasi isolat <i>S. aureus</i> asal manusia dan sampel susu sapi steril yang mengandung rSEA	47
Optimasi deteksi SEA pada isolat <i>S. aureus</i> asal manusia dan sampel susu sapi steril yang mengandung rSEA dengan uji ELISA <i>antigen capture</i>	48
Karakterisasi uji <i>dot blot</i> pada rSEA dan isolat <i>S. aureus</i> asal manusia	50
Deteksi SEA skala lapangan	51
Uji <i>california mastitis test (CMT)</i>	52
Uji fenotipik isolat susu sapi perah	53
Isolasi isolat susu sapi perah pada media Plat Agar Darah (PAD)	53
Pewarnaan Gram	53
Mannitol Salat Agar (MSA)	54
Uji katalase	54
Uji koagulase	55

Uji genotipik isolat susu sapi perah	55
Ekstraksi DNA isolat susu sapi perah	55
Amplifikasi gen 23SrRNA, gen <i>nuc</i> , dan gen <i>coa</i> pada isolat susu sapi perah	56
Preparasi isolat susu sapi perah untuk deteksi SEA dengan uji ELISA <i>antigen capture</i>	57
Deteksi SEA pada susu sapi perah dengan metode ELISA <i>antigen capture</i>	57
Deteksi SEA pada susu sapi perah dengan uji karakterisasi <i>dot blot</i>	58
Konfirmasi hasil deteksi SEA dengan uji PCR	59
Amplifikasi gen <i>sea</i> pada isolat susu sapi perah	59
Analisis data	60
 BAGAN ALUR PENELITIAN	 64
 HASIL DAN PEMBAHASAN	 65
Penelitian Tahap 1: Identifikasi molekular isolat asal manusia dan hewan	65
Amplifikasi gen 23SrRNA, gen <i>nuc</i> dan gen <i>coa</i>	65
Hasil amplifikasi gen pengkode klasik dan <i>new</i> enterotoksin dengan metode mPCR	68
Konfirmasi amplifikasi gen <i>sea</i> dengan metode <i>singleplex</i> PCR .	73
 Penelitian Tahap 2: Analisis protein rekombinan stafilkokal enterotoksin A dan produksi antibodi poliklonal terhadap rSEA	 75
Analisis protein rekombinan stafilkokal enterotoksin A (rSEA).....	75
Produksi antibodi poliklonal terhadap rSEA	76
Imunisasi antigen protein rekombinan SEA pada mencit <i>Balb/c</i> .	76
Panen antibodi poliklonal anti-rSEA	77
Optimasi dan pengukuran nilai absorbansi serum mencit.....	78
Karakterisasi antibodi poliklonal anti-rSEA	82
 Penelitian Tahap 3: Evaluasi antibodi poliklonal rSEA terhadap SEA skala laboratorium dan skala lapangan	 84
Deteksi SEA skala laboratorium	84
Preparasi isolat <i>S. aureus</i> asal manusia dan sampel susu steril yang mengandung SEA	84
Optimasi deteksi SEA pada isolat <i>S. aureus</i> asal manusia dan Sampel susu steril yang mengandung rSEA dengan uji ELISA ..	85
Karakterisasi uji <i>dot blot</i> pada rSEA dan isolat <i>S. aureus</i> asal manusia	88

Deteksi SEA skala lapangan	92
Uji <i>california mastitis test</i> (CMT)	92
Isolasi dan identifikasi secara fenotipik <i>Staphylococcus aureus</i> .	84
Pewarnaan Gram	95
<i>Mannitol Salt Agar</i> (MSA)	96
Uji katalase	97
Uji koagulase	98
Ekstraksi DNA susu sapi perah.....	101
Amplifikasi gen 23SrRNA, gen <i>nuc</i> , dan gen <i>coa</i> pada isolat susu Sapi perah.....	101
Preparasi sampel susu sapi perah	106
Deteksi SEA pada susu sapi perah dengan metode ELISA <i>antigen capture</i>	106
Deteksi SEA pada susu sapi perah dengan uji <i>dot blot</i>	108
Konfirmasi hasil deteksi SEA dengan uji PCR	109
Amplifikasi gen <i>sea</i> pada ekstrak DNA susu sapi perah	109
Analisis data	112
 KESIMPULAN DAN SARAN.....	123
Kesimpulan	123
Saran	126
 RINGKASAN	127
 DAFTAR PUSTAKA	132
 LAMPIRAN.....	141