

**Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta**

**Isolation, Identification and Sensitivity test of *Staphylococcus aureus* against Amoxicillin of the Milk Sample in the Mastitis Crossbreed Ettawa Goat at Girimulyo Area, Kulonprogo, Yogyakarta**

**Amalia Krishna Dewi**

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

Email: amaliakrishnadewi@yahoo.com

**Abstract**

*Staphylococcus aureus* is the main bacteria causing mastitis of the Ettawa crossbreed goat. The mastitis causes significant economic losses due to decreasing of milk production. Mastitis in goat could threat the survival rate of her kids because decrease in quality and quantity of milk products. The toxin produced by *S. aureus* can also cause the death of their mothers. The present research is aimed to isolate and identify *S. aureus* from mastitis milk sample of Ettawa crossbreed goat, and does its sensitivity to amoxicillin as well. The milk samples were collected from the mastitis crossbreed Ettawa goat at Girimulyo area, Kulonprogo, Yogyakarta. In the present study, 20 milk samples of Ettawa crossbreed goat were used to isolate and identify *S. aureus* based on the culture, Gram staining, biochemical and sugar tests. The isolates then tested for their sensitivity to amoxicillin. Nine isolates in the present study identified as *S. aureus* in which they grew on MSA, formed round cells cluster, Gram +, fermented manitol, lactose and maltose. They coagulated the rabbit plasma and reacted positively to the clumping factor and Voges Proskouer test. Based on the results of the sensitivity test to 10 µg amoxicillin is known that 8 isolates (88,89%) are sensitive to amoxicillin. Therefore, it can be concluded that there are 9 isolates from 20 mastitis milk samples of Ettawa crossbreed goat identified as *S. aureus*. *Staphylococcus aureus* isolates are mostly sensitive to amoxicillin.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, Ettawa crossbred goat, amoxicillin, mastitis, milk

## Abstrak

*Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penyebab utama mastitis pada Kambing Peranakan Ettawa (PE) yang menimbulkan kerugian ekonomi yang cukup besar akibat turunnya produksi susu. Mastitis pada kambing PE dapat mengancam kelangsungan hidup anaknya, karena selain menurunnya kualitas dan kuantitas produksi susu, toksin yang dihasilkan oleh *S. aureus* juga dapat menyebabkan kematian induknya. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi dan identifikasi *S. aureus* yang berasal dari sampel susu Mastitis kambing peranakan Ettawa, dan juga dilakukan uji sensitifitas *S. aureus* terhadap *amoxicillin*. Pada penelitian ini, digunakan dua puluh sampel susu yang diambil dari kambing PE penderita mastitis di Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Staphylococcus aureus* diisolasi dari susu tersebut dan diidentifikasi berdasarkan sifat biakan, pewarnaan Gram, uji biokimiawi dan uji gula-gula. Isolat selanjutnya diuji sensitifitasnya terhadap *amoxicillin*. Dalam penelitian ini telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi 9 isolat bakteri yang tumbuh dan memfermentasi plat *mannitol salt agar*, sel berbentuk bulat bergerombol, bersifat Gram +, memfermentasi maltosa dan laktosa, mengkoagulasi plasma kelinci dan bereaksi positif terhadap uji *clumping factor* dan *Voges Proskouer*. Pada penelitian ini, hasil uji terhadap *amoxicillin* 10 µg diketahui, bahwa 8 isolat (88,89%) adalah sensitif. Disimpulkan, bahwa terdapat 9 isolat dari 20 sampel susu kambing PE penderita mastitis yang diidentifikasi sebagai *Staphylococcus aureus*. Isolat *S. aureus* tersebut sebagian besar sensitif terhadap *amoxicillin*.

**Kata kunci:** *Staphylococcus aureus*, kambing PE, *amoxicillin*, mastitis, susu

## Pendahuluan

Beberapa penyakit yang umum terjadi pada ternak kambing seringkali kurang memperoleh perhatian. Salah satu penyakit yang menyebabkan kerugian secara ekonomis adalah mastitis (Murtidjo, 2009). Kejadian mastitis pada kambing PE sangat mengancam kelangsungan hidup anaknya, karena selain menurunnya kemampuan produksi susu, toksin yang dihasilkan oleh *S. aureus* juga dapat menyebabkan kematian induknya. Mastitis pada kambing PE akibat *S. aureus* selain sebagai faktor penyebab kematian anak dan induknya juga dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang cukup besar akibat turunnya produksi susu. Infeksi *intra-mammary gland* pada kambing akibat *S. aureus* ini pada umumnya bersifat subklinis (Smith, 1998; Purnomo, 2006).

Beberapa penyakit yang umum terjadi pada

ternak kambing seringkali kurang memperoleh perhatian. Salah satu penyakit yang menyebabkan kerugian secara ekonomis adalah mastitis (Murtidjo, 2009). Kejadian mastitis pada kambing PE sangat mengancam kelangsungan hidup anaknya, karena selain menurunnya kemampuan produksi susu, toksin yang dihasilkan oleh *S. aureus* juga dapat menyebabkan kematian induknya. Mastitis pada kambing PE akibat *S. aureus* selain sebagai faktor penyebab kematian anak dan induknya juga dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang cukup besar akibat turunnya produksi susu. Infeksi *intra-mammary gland* pada kambing akibat *S. aureus* ini pada umumnya bersifat subklinis (Smith, 1998; Purnomo, 2006).

Berdasarkan data Poskeswan Girimulyo Unit Pelayanan Teknis Daerah (UPTD) Poskeswan Wilayah Utara dilaporkan, bahwa pada bulan Januari sampai Juli 2009 terdapat 38 kasus mastitis, dengan

tingkat kematian induk sebesar 5%. Kejadian mastitis pada kambing PE di daerah Girimulyo juga menyebabkan penurunan harga jual kambing. *Staphylococcus aureus* merupakan agen penyebab utama mastitis pada sapi perah maupun kambing (Agus, 1991; Barkema *et al.*, 1998; Han *et al.*, 2000). *Staphylococcus aureus* sering menyebabkan mastitis subklinis maupun mastitis kronis, sehingga kejadian mastitis seringkali dihubungkan dengan infeksi *S. aureus* (Swart *et al.*, 1984; Watts *et al.*, 1986). *Staphylococcus aureus* dalam susu segar dan produk pangan dapat menyebabkan *toxic shock syndrome* akibat keracunan pangan. *Staphylococcal enterotoxin* merupakan agen yang menyebabkan sindrom keracunan dalam makanan pada manusia maupun hewan (Dinges *et al.*, 2000; Omoe *et al.*, 2002; Purnomo, 2006). Bakteri tersebut berbentuk menyerupai bola dengan garis tengah  $\pm 1 \mu\text{m}$  tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur (menyerupai buah anggur), dapat pula tersusun empat-empat (tetrad), membentuk rantai (3-4 sel), berpasangan atau satu-satu. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif dan berbentuk kokus

*Staphylococcus aureus* bersifat non-motil, non-spora, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif. *Staphylococcus aureus* tumbuh pada suhu 6,5-46° C dan pada pH 4,2-9,3 (Todar, 1998; Nurwantoro, 2001; Paryati, 2002). Koloni tumbuh dalam waktu 24 jam dengan diameter mencapai 4 mm. Koloni pada perbenihan padat berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau. *Staphylococcus aureus* membentuk koloni berwarna abu-abu sampai kuning emas tua. *Staphylococcus aureus* membentuk pigmen *lipochrom* yang menyebabkan koloni tampak berwarna kuning

keemasan dan kuning jeruk. Pigmen kuning tersebut membedakannya dari *Staphylococcus epidermidis* yang menghasilkan pigmen putih (Todar, 2002). Pigmen kuning keemasan timbul pada pertumbuhan selama 18-24 jam pada suhu 37° C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25° C). Pigmen tidak dihasilkan pada biak anaerobik atau pada kaldu. *Staphylococcus aureus* mudah tumbuh pada banyak pembenihan bakteri. Berbagai tingkat hemolisis dihasilkan oleh *S. aureus* dan kadang-kadang oleh spesies bakteri lain (Burrows, 1950; Jawetz *et al.*, 2001). *Staphylococcus aureus* pada media *mannitol salt agar* (MSA) akan terlihat sebagai pertumbuhan koloni berwarna kuning dikelilingi zona kuning keemasan karena kemampuan memfermentasi *mannitol*. Jika bakteri tidak mampu memfermentasi *mannitol*, maka akan tampak zona.

*Staphylococcus* mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik dan merupakan substansi penting di dalam struktur dinding sel. Peptidoglikan merupakan suatu polimer polisakarida yang mengandung subunit-subunit yang tergabung, merupakan eksoskeleton yang kaku pada dinding sel. Peptidoglikan dirusak oleh asam kuat atau lisozim. Hal tersebut penting dalam patogenesis infeksi, yaitu merangsang pembentukan interleukin-1 (pirogen endogen) dan antibodi opsonik, juga dapat menjadi penarik kimia (kemotraktan) leukosit polimorfonuklear, mempunyai aktifitas mirip endotoksin dan mengaktifkan komplemen (Jawetz *et al.*, 2005).

Carter and Wise (2004) melaporkan, bahwa peptidoglikan dan polimer polisakarida bersama asam teikoat membentuk dinding sel yang rigid, dalam hal ini asam teikoat berfungsi

menghubungkan peptidoglikan dan antigen. Protein A termasuk dalam komponen permukaan pada kebanyakan *S. aureus* yang virulen. Mikrokapsul polisakarida pada beberapa galur *S. aureus* yang berfungsi sebagai antifagosit yang mempunyai kemampuan mencegah bakteri dari respon peradangan. Pada permukaan sel *S. aureus* juga terdapat pigmen karoten yang memberi warna orange atau kuning.

*Staphylococcus aureus* menghasilkan tujuh tipe enterotoksin, yaitu: A, B, C, C1, C2, D dan E (Nurwantoro, 2001). Faktor virulensi *S. aureus* yang dapat menyebabkan infeksi meliputi: 1. Protein permukaan yang mempromosikan kolonisasi dalam jaringan hospes (protein A, adesin, hemaglutinin, glikoprotein, fibrionectin), 2. Invasin membantu bakteri menyebar dalam jaringan (*leukocidin, kinase, hyaluronidase*), 3. Faktor permukaan yang menghalangi fagositosis (kapsul, protein A), 4. Faktor biokimia yang meningkatkan ketahanan bakteri di dalam fagosit (*carotenoid, produksi katalase*), 5. Reaksi imunologis (protein A, *coagulase, clotting factor*), 6. Toksin perusak membran (*hemolysin, leukotoxin, leukocidin*) dan 7. Eksotoksin dalam jaringan menimbulkan kerusakan dan gejala penyakit (SEA-G, TSST, ET) (Todar, 1998).

Berdasarkan pada daya bunuh bakteri, maka antibiotik dibagi menjadi: a. Antibiotik *narrow spectrum* (spektrum sempit), b. Antibiotik *broad spectrum* (spektrum luas) dan c. Antibiotik *part spectrum* (spektrum sebagian atau khusus). Mekanisme aktivitas antibiotik adalah dengan melakukan penghambatan sintesis bahan penting bakteri, antara lain: a. Dinding sel (sintesis terganggu, sehingga dinding sel kurang sempurna

dan tidak tahan terhadap tekanan osmose plasma, akibatnya dinding sel pecah, misalnya *penicillin, cefalosporin*), b. Membran sel (molekul lipoprotein membran dalam dinding sel, sintesisnya diganggu, sehingga zat penting isi sel, yaitu polipeptid dapat keluar membran, karena membran lebih permeabel, *nystatin, amfoterisin B*), c. Protein sel (*chloramphenicol, tetracyclin*, gol. aminoglikosida dan makrolida), asam nukleat (RNA) (*rimfamisin* dan *mytomicin*) (Anief, 2009).

*Amoxicillin* merupakan senyawa *penicillin* semi sintetik dengan aktivitas antibakteri spektrum luas yang bersifat bakterisid. Aktivitasnya mirip dengan ampisilin, efektif terhadap sebagian bakteri Gram-positif dan beberapa Gram-negatif yang patogenik. Bakteri patogenik yang sensitif terhadap *amoxicillin* adalah *Staphylococci, Streptococci, Enterococci, S. pneumoniae, N. gonorrhoeae, H. influenzae, E. coli* dan *P. mirabilis*. *Amoxicillin* kurang efektif terhadap spesies *Shigella* dan bakteri penghasil beta-laktamase. Senyawa ini berbeda dengan ampisilin, yaitu dengan adanya suatu gugus hidroksil fenolik tambahan. Spektrum kerjanya seperti ampisilin, tetapi jumlah yang diabsorpsi lebih banyak (Mutschler, 1991).

### **Materi dan Metode**

Pada penelitian ini sampel yang digunakan berupa 20 susu dari 20 kambing Peranakan Ettawa (PE) penderita mastitis yang dikoleksi langsung dari kambing yang masih dalam periode laktasi di wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta.

Media pertumbuhan bakteri yang digunakan meliputi plat agar darah domba (PAD), *manitol salt agar* (MSA), *Voges Proskouer* (VP), gula-gula (maltosa, laktosa) dan bahan lain yang digunakan

meliputi disk antibiotik (*amoxicillin* 10 µg), es batu, NaCl fisiologis, alkohol 70%, plasma kelinci, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, satu set bahan pewarnaan Gram terdiri dari *crystal violet*, lugol, alkohol 95%, dan air *fuschine*.

Peralatan yang digunakan meliputi tabung reaksi steril, bunsen, usa, kapas, rak, objek glass, inkubator, cawan petri, mikroskop, termos es, kulkas dan alat-alat lain yang mendukung.

### **Pengambilan sampel**

Sampel susu diambil secara langsung dari kambing PE penderita mastitis klinis yang sedang dalam periode laktasi sebanyak 4-6 ml, ditampung ke dalam tabung reaksi steril yang tertutup dengan karet, dan dibawa ke laboratorium dalam keadaan dingin

### **Isolasi bakteri**

Sampel pada penelitian ini di pupuk pada media PAD dengan digunakan teknik isolasi lempeng garis/ metode T dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Koloni yang diduga *staphylococcus* dengan ciri-ciri bundar, halus, menonjol dan berkilau dan berwarna abu-abu sampai kuning emas tua dipupuk pada media MSA dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh akan diteliti lebih lanjut.

### **Pewarnaan Gram**

Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengamati morfologi sel *staphylococcus* dan mengetahui kemurnian sel bakteri. Pengecatan Gram merupakan salah satu pewarnaan yang paling sering digunakan, yang dikembangkan oleh Christian Gram. Preparat apus bakteri dibuat dengan cara, mencampurkan satu usa biak bakteri dari PAD

dengan NaCl fisiologis yang telah diteteskan pada gelas obyek, kemudian dibuat apus setipis mungkin, dikeringkan, dan difiksasi di atas lampu spiritus. Preparat apus ditetesi pewarna pertama dengan karbol gentian violet selama 2 menit, warna dibuang, ditetesi lugol selama 1 menit, kemudian preparat apus dilunturkan dengan alkohol 95% selama 1 menit. Selanjutnya alkohol dibuang, preparat dicuci dengan akuades dan diberi pewarna kedua dengan larutan *fuschine* selama 2 menit. Warna kemudian dibuang dan dibersihkan dengan akuades, dikeringkan dan diamati morfologi sel, serta warnanya di bawah mikroskop (Ferdiaz, 1993). Bakteri dikelompokkan sebagai Gram positif apabila selnya terwarnai keunguan, dan Gram negatif apabila selnya terwarnai merah.

### **Mannitol salt agar**

*Mannitol salt agar* (MSA) merupakan media selektif dan media diferensial (Sharp, 2006). Penanaman dilakukan dengan cara satu usa biakan diambil dari media pepton, dan diusapkan pada media MSA, kemudian diinkubasi pada 37° C selama 24 jam (Lay, 1994).

### **Uji Katalase**

Uji Katalase dilakukan dengan meneteskan hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 3% pada gelas obyek yang bersih. Biakan dioleskan pada gelas obyek yang sudah ditetesi hidrogen peroksida dengan usa. Suspensi dicampur secara perlahan menggunakan usa, hasil yang positif ditandai oleh terbentuknya gelembung-gelembung udara (Hadioetomo, 1990).

### **Uji koagulase**

Uji koagulase dilakukan dengan 2 metode, yaitu

uji *slide* dan uji tabung. Uji *slide* atau *clumping factor* digunakan untuk mengetahui adanya ikatan koagulase. Uji *slide* dikerjakan dengan cara setetes aquadest atau NaCl fisiologis steril diletakkan pada kaca benda, kemudian satu usa biakan yang diuji, disuspensikan. Setetes plasma diletakkan di dekat suspensi biakan tersebut, keduanya dicampur dengan menggunakan usa dan kemudian digoyangkan. Reaksi positif terjadi apabila dalam waktu 2-3 menit terbentuk presipitat granuler (Brückler *et al.*, 1994).

Uji tabung digunakan untuk mengetahui adanya koagulase bebas dengan cara 200 µl plasma dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril. Sebanyak 3-4 koloni biakan *Staphylococcus sp.* yang diuji ditambahkan ke dalam tabung reaksi kemudian dicampur hati-hati. Selanjutnya, tabung dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan pada 4 jam pertama, dan sesudah 18-24 jam. Reaksi positif akan terjadi apabila terbentuk *clot* atau *jelly* dan ketika tabung dimiringkan *jelly* tetap berada di dasar tabung (Lay, 1994).

### Uji Voges Proskouer

Uji Voges Proskouer (VP) dikerjakan dengan memupuk koloni *staphylococcus* pada media VP dalam tabung dan diinkubasi selama 48 jam. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan warna media yang menjadi keruh, kemudian ditambahkan ke dalam tabung *Barrit's* reagen, terdiri atas larutan KOH 40% dalam akuades steril dan *α-naphthol* 5% dalam ethanol, yang bertindak sebagai katalis. Larutan yang telah ditambah reagen kemudian dikocok perlahan tiap 3-5 menit dan diamati adanya perubahan warna larutan dari kuning menjadi merah

tua yang menunjukkan adanya kandungan asetoin yang diproduksi oleh bakteri dalam larutan.

### Uji gula-gula

Uji gula-gula yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji maltosa dan laktosa. Pertama-tama kaldu karbohidrat ditandai dengan etiket, kemudian biakan bakteri diinokulasikan ke dalam kaldu karbohidrat, selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37° C selama 24 jam. Uji gula-gula bersifat positif apabila terlihat perubahan warna menjadi kekuningan dan negatif apabila warnanya tetap merah (Lay, 1994).

### Antibiogram metode Kirby-Bauer

Uji antibiogram dengan metode Kirby-Bauer dilakukan dengan cara memupuk bakteri pada media cair (THB) dengan cara bakteri biak padat diinokulasikan ke dalam kaldu THB dengan cara dimasukkan sampai kedalaman tiga perempat bagian dari permukaan media, kemudian diinkubasikan pada suhu 37° C selama 24-48 jam. Hasil positif jika kaldu menjadi keruh dan terdapat endapan (Lay, 1994). Bakteri yang dibiakkan pada biak cair dipupuk pada media agar (MHA), dengan cara mencelupkan tangkai kapas steril ke dalam biakan mikroorganisme, kemudian kapas tersebut diusapkan pada seluruh permukaan lempengan sampai merata, biakan tersebut didiamkan selama 5 menit dan antibiotik disk (*amoxicillin* 10 µg) diletakkan diatas biakan yang telah dipupuk. Plat MHA selanjutnya diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam, dan diameter zona terang yang terbentuk diukur dalam satuan mm, dan dibandingkan dengan standar dari *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (2004). Bakteri dikatakan resistensi intermediet apabila diameternya antara



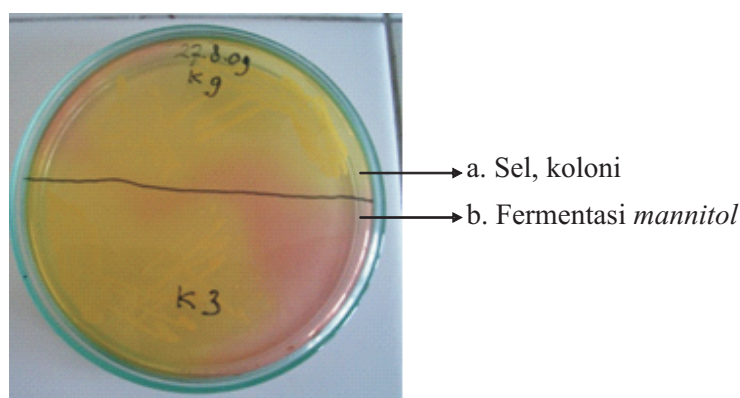
16-22 mm, dan sensitif apabila diameternya 23 mm.

### Hasil dan Pembahasan

Dua puluh sampel susu mastitis yang dikoleksi dari ambing kambing Peranakan Ettawa (PE) di daerah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta dipupuk pada PAD. Koloni yang tumbuh pada media PAD dengan bentuk bundar, halus, menonjol, berkilau dan berwarna abu-abu sampai kuning emas tua dipupuk pada media MSA. Pemupukan pada MSA dihasilkan 15 sampel dari 20 sampel susu mastitis yang menunjukkan pertumbuhan koloni. Pada pemupukan tersebut diketahui 2 isolat tidak menunjukkan adanya zona kuning yang mengelilingi koloni dan 13 isolat menunjukkan pertumbuhan koloni yang dikelilingi zona kuning (Gambar 1). *Staphylococcus aureus* pada media *mannitol salt agar* (MSA) menunjukkan pertumbuhan koloni berwarna putih kekuningan dikelilingi zona kuning karena kemampuan memfermentasi *mannitol*. Bakteri yang tidak mampu memfermentasi *mannitol* tampak zona berwarna merah atau merah muda (Boyd dan Morr, 1984). Zona kuning menunjukkan adanya

fermentasi *mannitol*, yaitu asam yang dihasilkan, menyebabkan perubahan *phenol red* pada agar yang berubah dari merah menjadi berwarna kuning (Austin, 2006).

Hasil pewarnaan Gram dari 15 sampel susu mastitis yang tumbuh pada MSA menunjukkan bakteri berwarna ungu dan berbentuk sirkuler bergerombol seperti buah anggur (Gambar 2). Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengamati morfologi sel bakteri dan mengetahui kemurnian sel bakteri (Fardiaz, 1993). Pada penelitian ini morfologi sel isolat adalah Gram positif, berbentuk kokus tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur (menyerupai buah anggur), dapat pula tersusun empat-empat (tetrad), membentuk rantai (3-4 sel), berpasangan atau satu-satu. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif dan berbentuk kokus yang menghasilkan warna ungu pada pewarnaan Gram. Warna ungu disebabkan karena bakteri mempertahankan warna pertama, yaitu gentian violet. Perbedaan sifat Gram dipengaruhi oleh kandungan pada dinding sel, yaitu bakteri Gram positif kandungan peptidoglikan lebih tebal jika dibanding dengan Gram negatif (Fardiaz, 1993; Pelczar, 1998).



Gambar 1. Sifat pertumbuhan isolat yang diteliti pada media MSA. Bakteri tumbuh (a) dan memfermentasi manitol (b) yang dikelilingi zona kuning di sekitar koloni



Gambar 2. Hasil pewarnaan Gram terhadap isolat bakteri asal mastitis kambing PE di Girimulyo. Bakteri berwarna ungu (Gram +) dan berbentuk kokus

Hasil uji katalase terhadap 15 sampel yang tumbuh pada MSA pada penelitian ini didapatkan, bahwa semua isolat (bakteri) menunjukkan reaksi positif (Tabel 1). Fungsi uji katalase pada bakteri berbentuk kokus adalah untuk membedakan antara *staphylococcus* dan *streptococcus*, dimana kelompok *staphylococcus* bersifat katalase positif. Katalase merupakan enzim yang mengkatalisa

penguraian hidrogen peroksida menjadi H<sub>2</sub>O dan O<sub>2</sub>. Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktifkan enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob pasti menguraikan bahan tersebut (Lay, 1994). Menurut Schliefer (1986) semua galur *staphylococcus* adalah katalase positif (Freney *et al.*, 1999).

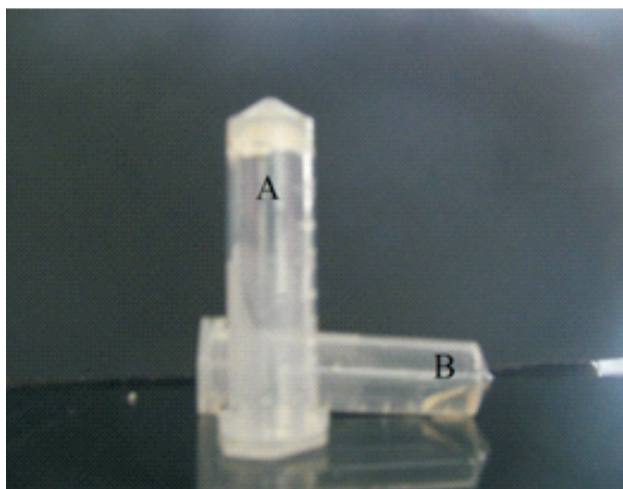
Tabel 1. Hasil identifikasi 15 isolat dari sampel susu kambing PE penderita mastitis

No	Kode	Fermentasi Mannitol	Gram	Uji Katalase
1	K 3	+	+	+
2	K 4	+	+	+
3	K 5	+	+	+
4	K 6	+	+	+
5	K 7	+	+	+
6	K 8	+	+	+
7	K 9	+	+	+
8	K11	+	+	+
9	K12	+	+	+
10	K13	+	+	+
11	K14	+	+	+
12	K15	-	+	+
13	K16	-	+	+
14	K17	+	+	+
15	K18	+	+	+



Hasil uji koagulase terhadap 15 isolat yang memfermentasi *mannitol* adalah 10 sampel koagulase positif dengan ditunjukkan adanya *clot* pada dasar *Eppendorf* (Gambar 3). Uji koagulase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim koagulase. Produksi koagulase

adalah kriteria yang paling umum digunakan untuk identifikasi sementara *S. aureus* (Abrar, 2001). Reaksi koagulase positif sangat penting untuk membedakan *S. aureus* dengan spesies *staphylococcus* yang lain (Bruckler *et al.*, 1994).



Gambar 3. Hasil uji koagulase isolat susu kambing PE penderita mastitis, A positif dan B negatif

Koagulase merupakan protein ekstraseluler yang dihasilkan oleh *S. aureus* yang dapat menggumpalkan plasma dengan bantuan faktor yang terdapat dalam serum. Oleh karena itu peran koagulase yang dihasilkan oleh *S. aureus* dapat digunakan sebagai sarana diagnostik (Bruckler *et al.*, 1994).

Pada uji VP terhadap 10 sampel yang positif uji koagulase, 9 isolat menunjukkan hasil yang positif ditandai dengan adanya perubahan warna media setelah penambahan reagen. *Acetyl-methyl-carbinol* adalah salah satu hasil produk pemecahan *dextrose* oleh enzim bakteri. Beberapa organisme yang memfermentasi *dextrose* memproduksi substansi tersebut, sedangkan yang lain tidak. Cara tersebut adalah salah satu cara untuk men-diferensiasi

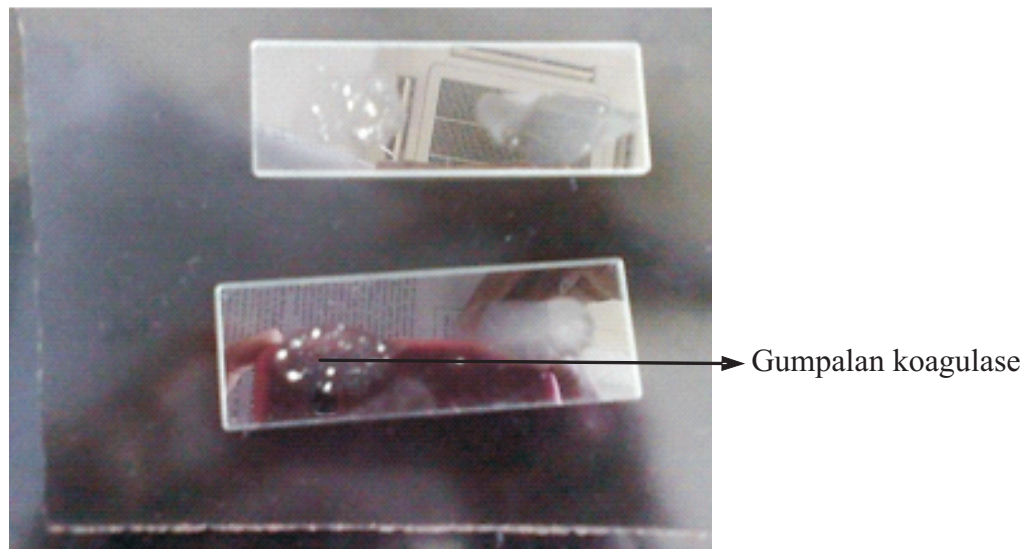
organisme (Marshall, 1951). *Staphylococcus aureus* menunjukkan hasil yang positif. Hasil yang positif akan merubah warna kuning menjadi merah muda.

Hasil uji *clumping factor* dari 10 sampel pada penelitian ini didapatkan 7 sampel menunjukkan hasil positif, yang ditandai dengan adanya presipitat granuler, yaitu berupa butir-butir halus (Gambar 4; Tabel 2). Uji *clumping factor* berfungsi untuk mengetahui adanya produksi *bound coagulase*, yang merupakan enzim koagulase yang terikat pada sel (Finegold and Baron, 1986; Todar, 2002). Reaksi *clumping factor* terjadi berdasarkan reaksi antara *S. aureus* dengan fibrinogen yang terdapat dalam serum yang ditunjukkan dengan adanya gumpalan koagulase pada gelas obyek. Sifat tersebut digunakan sebagai kriteria penentuan *S. aureus* (Bruckler *et al.*, 1994).

Uji gula-gula laktosa dan maltosa terhadap 10 sampel koagulase positif didapatkan 8 sampel menunjukkan hasil positif terhadap laktosa dan 9 sampel menunjukkan hasil positif terhadap maltosa. Uji ini digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menfermentasi karbohidrat. Berdasarkan penelitian di atas 9 dari 20 isolat disimpulkan sebagai *Staphylococcus aureus*.

**Uji sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap amoxicillin**

Berdasarkan uji sensitifitas terhadap *amoxicillin* (Tabel 3) sebagian besar isolat *S. aureus* sensitif terhadap *amoxicillin*. Hal tersebut menunjukkan, bahwa kejadian mastitis pada kambing PE masih dapat diobati dengan *amoxicillin*.



Gambar 4. Sifat *Staphylococcus aureus* pada uji *clumping fcktor*. Hasil positif ditandai adanya gumpalan koagulase pada gelas obyek

Tabel 2. Hasil uji koagulase tabung, *clumping factor*, VP dan gula-gula 10 isolat *staphylococcus* asal susu kambing PE penderita mastitis

No	Kode	Koagulase tabung		Clumping factor	VP	Gula-gula	
		4 jam	24 jam			Laktosa	Maltosa
1	K3	+	+	+	+	+	+
2	K8	+	+	+	+	+	+
3	K11	+	+	+	+	+	+
4	K12	+	+	+	+	+	+
5	K18	+	+	+	+	+	+
6	K4	+	+	+	+	-	+
7	K6	+	+	-	+	+	+
8	K5	-	+	-	+	+	+
9	K9	-	+	-	+	+	-
10	K15	-	+	+	-	-	+

Tabel 3. Uji sensitivitas *S. aureus* asal susu kambing peranakan Ettawa terhadap *amoxicillin*

No	Kode	Diameter (mm)	Kriteria
1.	K3	28	Sensitif
2.	K4	26	Sensitif
3.	K5	23	Sensitif
4.	K6	27	Sensitif
5.	K8	29	Sensitif
6.	K9	11	Resisten
7.	K11	24	Sensitif
8.	K12	24	Sensitif
5.	K18	25	Sensitif

*Amoxicillin* merupakan antibakteri spektrum luas yang bersifat bakterisid dan efektif terhadap sebagian bakteri Gram-positif dan beberapa Gram negatif yang patogenik. *Staphylococci* merupakan salah satu bakteri patogenik yang sensitif terhadap amoxicillin (Werckenthin, 2001; Pengov, 2003). Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian yang telah dilaporkan oleh Gitawati (2007), yaitu hasil resistensi *S. aureus* terhadap anti-mikroba golongan beta laktam adalah 0%, namun penggunaan antibiotik yang tidak rasional dapat menimbulkan resistensi. Resistensi bakteri terhadap antibiotika dapat terjadi lewat mekanisme mutasi, transformasi transduksi maupun konjugasi (Timoney *et. al.*, 1991).

#### Daftar Pustaka

Abrar, M. (2001) Isolasi, karakterisasi dan aktivitas biologi hemaglutinin *Staphylococcus aureus* dalam proses adhesi pada permukaan sel ephitel ambing sapi perah. Disertasi Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Agus, M. (1991) Mastitis study in dairy cattle in Baturraden. *Hemerazoa* 74: 21-24.

Anief, M. (2009) Prinsip umum dan dasar farmakologi. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta

Anonim. (1980) Diagnostic manual of veterinary clinical bacteriology and mycology. UNESCO/CIDA Regional Training Course in Veterinary Diagnostic Microbiology.

Austin, T.X. (2010) Manitol salt agar. Austin Community College District. [http://www.austincc.edu/microbugz/html/mannitol\\_salt\\_agar.html](http://www.austincc.edu/microbugz/html/mannitol_salt_agar.html). [22-03-10].

Baird-Parker, A.C. (1962) A classification of Micrococci and staphylococci based on physiological and biochemical tests.

Barkema, H.W., Schukken, Y.H., Lam, T.J.G.M., Beiboer, L.M., Wilmink, H., Bonedictus, G. and Brand, A. (1998) Incidence of clinical mastitis in dairy herds grouped in three categories by bulk milk somatic cell counts. *J. Dairy. Sci.* 81: 411-419.

Burrows, W., Gordon, F.B., Porter, R.J., and Mowbray, J.W. (1950) Jordan-Burrows Textbook of Bacteriology 15<sup>th</sup> edition. W. B Saunders Company. Philadelphia, USA.

- Boyd, R.I. and Morr, J. J. (1984) Medical Microbiology. Little, Brown and Company Boston. United States of America. Hal. 34-37.
- Brückler, J., Schwarz, S. and F. Untermann, F. (1994) Staphylokokken-infektionen und -enterotoxine, band. II/1, In: Blobel, H. und Schließer (Eds.), Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren, 2. Auflage. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart.
- Carter, G.R and Wise, D.J. (2004) Essentials of veterinary bacteriology and mycology, sixth Edition. Iowa State Press. Iowa, USA.
- Dinges, M.M., Orwin, P.M. and Schlievert, P.M. (2000) Enterotoxin of *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Rev.* 13: 16-34.
- Fardiaz, S. (1993) Analisis Mikrobiologi Pangan. PT Prasinado Persada. Jakarta.
- Finegold, S.M. and Baron, E.J. (1986) Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 7<sup>th</sup> Edition. The C.V. Mosby Company. St Louis. Toronto. Pp.201-209.
- Freney, J., Kioos, W.E., Hajek., and Webster, J.A. (1999) Recommended minimal standard for description of new *Staphylococcal* species. *Int. J. Syst. Bacterio.* 49: 489-502.
- Hadioetomo, R.S. (1990) Mikrobiologi dasar dalam praktek teknik dan prosedur dasar laboratorium. Penerbit PT Gramedia, Jakarta. Hal 103-104
- Han, H.R., Park, S.I., Kang, S.W., Jong, W.S. and Youn, C.J. (2000) Capsular polysaccharide typing of domestic mastitis-causing *Staphylococcus aureus* strains and its potential exploration of bovine mastitis vaccine development. I. Capsular polysaccharide typing, isolation and purification of the strain. *J. Vet. Sci.* 1: 53 -63.
- Jawetz, E., Melnick, J.L. and Adelberg, E.A. (2001) Mikrobiologi kedokteran. Edisi 2. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Jawetz, E., Melnick, J.L. and Adelberg, E.A. (2005) Mikrobiologi kedokteran. Buku 1. Penerbit Salemba Medika. Jakarta.
- Lay, B. W. (1994) Analisis Mikroba di Laboratorium. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Marshal, M.S. (1951) Laboratory guide in elementary microbiology. McGraw-Hill Book Company, Inc. Pp 86.
- Murtidjo, B.A. (2009) Kambing sebagai ternak potong dan perah. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Mutschler, E. (1991) Dinamika obat Edisi kelima. Penerbit IPB. Bandung.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (2004) Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. informational supplement. NCCLS document M31-S1, Wayne, Philadelphia, USA.
- Nurwantoro dan Abbas, S. (2001) Mikrobiologi Pangan Hewani Nabati. Penerbit Kanisius, Yogyakarta
- Omoe, K., Ishikawa, M, Shimoda, Y., Hu, D.L., Ueda, and 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.
- Paryati, S.P.Y. (2002) Patogenesis Mastitis Subklinis pada Sapi Perah yang Disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. Makalah Pengantar Falsafah Sains. Institute Pertanian Bogor.
- Pelczar, M. J. Jr, and Chan, E. C. S. (1998) Dasar-Dasar Mikrobiologi 2. Cetakan 1. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Pengov, A. and Ceru, S. (2003) Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine and ovine mammary glands. *J. Dairy Sci.* 86: 3157-3163.
- Purnomo, A, Hartatik, Khusnan, Salasia, S.I.O. dan Soegiyono (2006) Isolation and Characterization of *Staphylococcus aureus* of Milk of Ettawa Crossbred Goat. Media Kedokteran Hewan.

- Sharp, S. E. and Cidy, S. (2006) Comparison of mannitol salt Agar and blood agar plates for identification and susceptibility testing of *Staphylococcus aureus* in specimens from cystic fibrosis patients. *J. Clin. Microbiol.* 44(12):4545-4546.
- Smith, T. H., Lawrance K. F. and Middleton J. R. (1998) *Outbreak of mastitis caused by one strain of Staphylococcus aureus in a closed dairy herd.* J.A.V.M.A.. 212: 553-556.
- Swartz, R., Jooste, P.J. and Novello, J.C. (1984) Prevalence and types of bacteria associated subclinical mastitis in Bloem Fonte in dairy herds. *Vet. Assoc.* 51: 61.
- Timoney, J.F., Gillespie, J.H., Scott, F.W. and Barlough, J.E. (1991) Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals. 8th Ed. Cornell University Press, Ithaca and London, United Kingdom.
- Todar, K. (1998) *Bacteriology 330 Lecture Topics: Staphylococcus.* Kenneth Todar University of Wisconsin Department of Bacteriology, Wisconsin, USA.
- Todar, K. (2002) *Staphylococcus Bacteriology at UW-Bacteriology 330 Home Page 1-7.*
- Watts, J.L., Owens, W.E. and Nickerson, S.C. (1986) Identification of staphylococci from bovine udders: evaluation of the API 20GP system. *Can. J. Microbiol.* 32: 359-361.
- Werckenthin, C., Cardoso, M., Louismartel J. and Schwarz, S. (2001) Antimicrobial resistance in staphylococci from animals with particular reference to bovine *S. aureus*, porcine *S. hyicus* and Canine *S. intermedius*. *J. Vet. Res.* 32: 341-362.