

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI *Staphylococcus aureus* PADA SUSU ANJING
DI WILAYAH YOGYAKARTA**

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF *Staphylococcus aureus*
FROM BITCH'S MILK IN YOGYAKARTA**

**Guntari Titik Mulyani¹, Ria Dwi Hapsari¹, Soedarmanto Indarjulianto¹, Tri Untari², Yanuartono¹,
Slamet Raharjo¹, Hary Purnamaningsih¹**

¹Bagian Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

²Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Email: guntaritikmulyani@yahoo.com.

ABSTRACT

Mortality on puppies under one month age were high in Indonesia. One of the aetiology supposed from suffered mastitis bitch. The high mortality of puppies cause a high disadvantages on most kennel in Indonesia. The aim of the research was to isolate and identify *Staphylococcus aureus* in bitch's milk. Sixty four (64) bitch's milk were collected from lactated bitch in Yogyakarta. Based on phenotype examination of the isolate, 6 isolates were *Staphylococcus aureus* with coccus clusters of gram positive, resembling bunches of grapes, facultative anaerobes, positive of catalase, non motile, positive of coagulase. These *Staphylococcus aureus* isolates were sensitive to erythromycin, tetracycline and chloramphenicol, but resistant to penicillin and ampicillin.

Key words : bitch's milk, *Staphylococcus aureus*, antibiotic, sensitive, resistance

ABSTRAK

Kasus kematian anak anjing berumur kurang dari satu bulan banyak ditemukan di Indonesia. Diduga, salah satu penyebabnya adalah akibat mastitis pada anjing induk. Hal ini menyebabkan kerugian cukup besar pada banyak kennel di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi dan identifikasi *Staphylococcus aureus* pada susu anjing. Penelitian ini menggunakan 64 sampel susu anjing yang dikoleksi dari anjing betina laktasi di wilayah Daerah Istimewa Yogyakarta. Berdasarkan hasil pemeriksaan secara fenotip sifat biakan, didapatkan 6 isolat sebagai *Staphylococcus aureus*, yang memiliki bentuk sel kokus, bergerombol, gram positif pada pewarnaan gram, menfermentasikan manitol, memiliki enzim koagulase dan katalase, dan menfermentasikan gula-gula. Bakteri tersebut sensitif terhadap antibiotika eritromisin, tetrasiklin dan khlorampenikol serta resisten terhadap antibiotik penisilin dan ampisilin.

Kata kunci : susu anjing, *Staphylococcus aureus*, antibiotik, sensitif, resisten

PENDAHULUAN

Mastitis merupakan salah satu penyakit yang dapat menimbulkan kerugian pada suatu *kennel* dalam membesarkan anakan anjing terutama selama masa pemeliharaan anak anjing yang baru lahir hingga berumur satu bulan. Banyak di wilayah Indonesia ditemukan kasus kematian anak anjing yang berumur kurang dari 1 bulan yang diduga disebabkan *mastitis* pada induknya. Mastitis tersebut sebagian besar merupakan infeksi sub klinis, yang menyebabkan susu mengandung *toxic shock syndrom*, sehingga selain tidak dapat diminum, juga akan meracuni anaknya yang dapat mengakibatkan kematian (Savige, 2005). Bakteri yang dominan menyebabkan mastitis pada anjing adalah *Colibacillosis*, *Streptococcus strain hemolitikus*, *Staphylococcus sp.* (Anonim, 2002). *Staphylococcus aureus* mempunyai arti penting sebagai penyebab mastitis sub klinis karena bakteri ini dapat menyebar kemana-mana dan dapat membentuk koloni dengan baik pada kulit dan puting ambing. Keberadaan pada kulit merupakan suatu keuntungan bagi bakteri ini untuk terhindar dari sel fagosit, sehingga bakteri menjadi persisten (Todar, 2005). *Staphylococcus aureus* yang terkandung dalam susu dapat berasal dari pencemaran pada bagian luar tubuh hewan tersebut, terutama pada daerah ambing. *Staphylococcus aureus* dalam susu dapat pula dikarenakan adanya invasi pada kelenjar ambing itu sendiri. Kemampuan menghasilkan enterotoksin dapat menyebabkan perubahan sifat susu (Jekti, 2007).

Informasi tentang *Staphylococcus aureus* pada

anjing masih sangat kurang sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi *Staphylococcus aureus* yang terdapat pada susu anjing di wilayah Yogyakarta.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan 60 sampel susu yang langsung dikoleksi dari anjing betina yang masih laktasi di wilayah Daerah Istimewa Yogyakarta. Sebagai media pertumbuhan bakteri yang digunakan meliputi Plat Agar Darah, *Manitol Salt Agar* (MSA), gula-gula (sukrosa, dan maltosa) dan bahan lain yang digunakan meliputi *sensitivity disc*, (Ampisilin 10 µg, Eritromisin 15 µg, kloramfenikol 30 µg, Penisilin 10 µg dan Tetrasiklin 30 µg) es batu, NaCl fisiologis, alkohol 70%, plasma kelinci, H₂O₂, pewarnaan gram yang terdiri dari gentian violet, lugol, alkohol 95%, dan *air fuschine*. Peralatan yang digunakan meliputi tabung reaksi steril, label, bunsen, usa, kapas, rak, obyek glass, inkubator, cawan petri, *disc dispenser*, mikroskop dan termos es.

Metode yang dipakai meliputi pengambilan sampel susu diambil secara langsung dengan cara mengkoleksi dari ambing anjing betina yang sedang dalam masa laktasi sebanyak 0,5 – 2 cc. Sampel susu yang dikoleksi berasal dari 1- 4 puting susu setiap anjing betina laktasi dan ditampung pada tabung reaksi tertutup, kemudian sampel susu dikultur pada media Plat Agar Darah (PAD) dengan menggunakan teknik isolasi lempeng garis dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Koloni bakteri yang tumbuh dilanjutkan dengan

pengecatan gram dan hasilnya diamati di bawah mikroskop sesuai dengan metode Fardiaz (1993). Uji selanjutnya dipupuk ke dalam gula-gula untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi karbohidrat. Penanaman pada media gula-gula diawali dengan mengambil biakan dengan usa kemudian ditanam kedalam tabung berisi sukrosa dan diinkubasi pada suhu 37°C.

Isolat kemudian diuji katalase yaitu dengan cara meneteskan hidrogen peroksida (H₂O₂) 3% pada *obyek glass* yang bersih dan dilakukan uji koagulase. Uji koagulase dilakukan dengan uji tabung dengan memupuk bakteri ke dalam plasma kelinci.

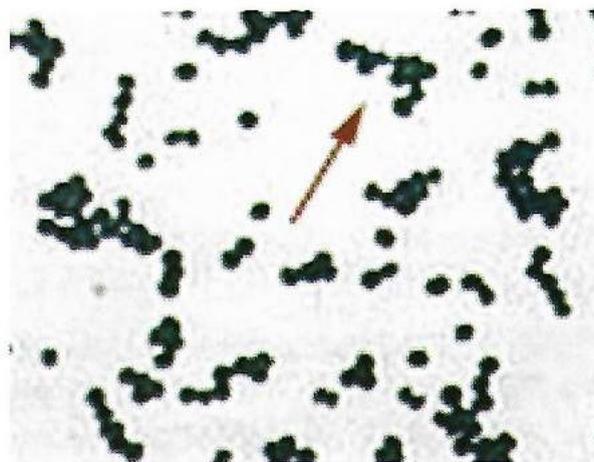
Isolat selanjutnya dikultur pada media *Manitol Salt Agar* (MSA), diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Uji sensitivitas bakteri dilakukan dengan mengambil biakan *Staphylococcus aureus* dan diusapkan pada permukaan agar *Mullerhinton*. Pelat diputar 60° untuk menyebarkan biakan. Setelah 10-15 menit kemudian *sensitivity disc* diletakkan secara hati-hati dengan menggunakan pinset. Kertas cakram antibiotik yang digunakan terdiri atas

penisilin, ampisilin, tetrasiklin, eritrimisin, kloramphenicol dan selanjutnya plat agar diinkubasi pada suhu 37°C. Zona inhibisi bakteri di sekitar disc diukur dan dievaluasi dengan ketentuan NCCLS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini isolasi dan identifikasi bakteri yang bersal dari 64 sampel susu anjing dimulai dengan pemupukan pada media *Plat Agar Darah* (PAD) dan dilanjutkan dipupuk pada *Manitol Salt Agar* (MSA). Pertumbuhan koloni bakteri p PAD berbentuk sirkuler, tepi koloni rata, warna koloni kuning dan putih.

Hasil pengecatan Gram, diperoleh 30 sampel mempunyai gram +, terlihat bakteri berbentuk kokus, sel berwarna ungu. Perbedaan respon pengecatan gram dikarenakan dinding bakteri gram positif kandungan peptidoglikan lebih tinggi dan kandungan lipid lebih rendah dibanding bakteri gram negatif (Hadioetomo, 1990; Pelzar dan Chan, 2006). Morfologi *Staphylococcus* pada pengecatan gram dan maltosa dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengecatan gram *Staphylo-coccus*. Bakteri berbentuk kokus, berwarna ungu.

Pemupukan pada media MSA. Dengan kultur ini diperoleh hasil 30 tumbuh sebagai koloni berwarna kuning dikelilingi zona berwarna kuning. Menurut Austin (2006) *Staphylococcus aureus* pada media MSA menunjukkan koloni berwarna kuning dikelilingi zona berwarna kuning karena memfermentasi manitol. Sifat pertumbuhan isolat pada media MSA dapat dilihat pada Gambar 2.

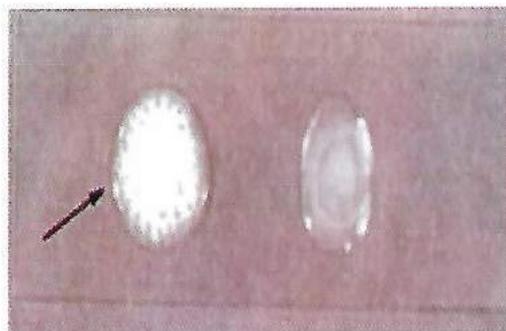
Uji selanjutnya yaitu uji gula-gula. Dari 64 sampel hanya 10 sampel yang menunjukkan hasil positif yaitu terjadinya perubahan warna menjadi kekuningan. Uji ini digunakan untuk mengetahui

kemampuan bakteri dalam memfermentasi karbohidrat (sukrosa, kuning) (Todar, 2005).

Uji selanjutnya yaitu uji katalase yang digunakan untuk membedakan antara *Staphylococcus sp.* dengan *Streptococcus sp.* Hasil yang diperoleh dari uji ini adalah 10 sampel menunjukkan katalase positif yang ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung gas. *Staphylococcus sp.* akan menunjukkan katalase positif karena bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim katalase yang ditunjukkan dengan adanya gelembung-gelembung gas (Anonimus, 2007). Sifat *Staphylococcus* pada uji katalase dapat dilihat pada Gambar 3.



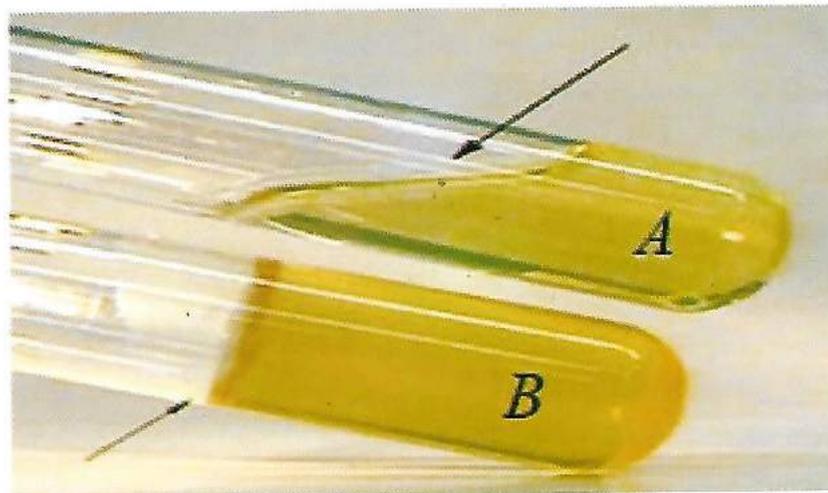
Gambar 2. Sifat pertumbuhan isolat sampel pada media MSA mampu memfermentasi manitol.



Gambar 3. Sifat *Staphylococcus* pada uji katalase terlihat adanya gelembung gas.

Uji selanjutnya yaitu uji koagulase tabung. Dari 10 sampel diperoleh hasil 6 sampel yang menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya *clot* atau *gel*. Uji koagulase ini dilakukan dengan metode koagulase tabung dengan menggunakan plasma kelinci yang bertujuan untuk membedakan antara *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. Umumnya *Staphylococcus aureus* menunjukkan koagulase positif sedangkan *Staphylococcus epidermidis* adalah koagulase negatif. Sifat *Staphylococcus aureus* pada uji koagulase dapat dilihat pada Gambar 4. Hasil dikatakan positif terjadi jika media berubah dari merah menjadi

Berdasarkan uji yang telah dilakukan dan pengamatan terhadap pertumbuhan diketahui hasil berupa : morfologi sel bakteri berbentuk kokus, bergerombol, bersifat gram positif, menfermentasi maltosa dan sukrosa, bereaksi positif terhadap uji katalase, uji koagulase, dan maka ditarik kesimpulan dari 64 sampel hanya didapat 6 sampel yang dinyatakan positif sebagai isolat *Staphylococcus aureus* yang kemudian dilakukan uji sensitivitas. Prosentase hasil uji sensitivitas *Staphylococcus aureus* isolat susu anjing terhadap beberapa antibiotik disajikan pada Tabel 1.



Gambar 4. Sifat *Staphylococcus aureus* pada uji koagulase mampu mengaglutinin plasma (B) ; sifat *Staphylococcus epidermidis* pada uji koagulase tidak mengaglutinin plasma (A)

Tabel 1. Prosentase hasil uji sensitivitas *Staphylococcus aureus* isolat susu anjing terhadap beberapa antibiotik

Antibiotik	Resisten	Intermedier	Sensitif
Ampicillin	50%	0%	50%
Kloramfenikol	0%	20%	80%
Eritromisin	0%	0%	100%
Tetrasiklin	20%	0%	80%
Penisillin	50%	0%	50%

Tabel 1 menunjukkan *Staphylococcus aureus* dengan tingkat resistensi tertinggi terjadi terhadap penisilin G (50 %) dan ampicilin (50 %) karena golongan antibiotik betalaktam yang mudah terhidrolisa sehingga aktivitasnya mudah dirusak oleh bakteri yang menghasilkan enzim beta-laktamase (Bywater, 1991). Tingkat sensitive terjadi terhadap Eritromisin (100 %), tetrasiklin (80 %), dan klorampenikol (80 %), dimana ketiga antibiotik ini berada dalam satu golongan yaitu golongan tetrasiklin karena golongan ini mekanisme kerjanya menghambat sintesis bakteri pada ribosom.

Penelitian mengenai mastitis anjing masih sangat dibutuhkan terutama untuk menentukan pengobatan yang efisien. Tetrasiklin, eritromisin, klorampenikol merupakan antibiotik yang lebih sensitif terhadap *Staphylococcus aureus* sehingga di lapangan disarankan untuk digunakan dalam menangani mastitis pada anjing. Identifikasi bakteri penyebab mastitis pada anjing tidak hanya dilakukan terhadap *Staphylococcus aureus* tetapi juga terhadap bakteri lain.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa telah dapat diidentifikasi isolat *Staphylococcus aureus* dari sampel susu anjing di wilayah Daerah Istimewa Yogyakarta. Dari sejumlah 64 sampel susu anjing, 6 diantaranya terdapat bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada uji sensitivitas dapat terlihat bahwa *Staphylococcus aureus* yang diisolasi sensitif terhadap tetrasiklin, eritromisin, klorampenikol dan resisten terhadap penisilin, ampicilin.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2002. Canine Mastitis. Chineroad Lowchen Australia <http://www.lowchensaustralia.com/mastitis.htm>.
- _____. 2007. Mastitis in Cow. [http://en.Wikipedia.org/wiki/Staphylo-coccus aureus](http://en.Wikipedia.org/wiki/Staphylo-coccus_aureus).
- Austin, T.X. 2006. Mannitol Salt Agar. Austin Community College District. http://www.austincc.edu/microbugz/html/mannitol_salt_agar.html.
- Bywater, R.J. 1991. *The Control of Infectious Diseases: Chemotherapy in Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics*. Edited by G.C.Brander, D.M. Pugh, R.J.Bywater and W.L. Jenkins. 5th edition. ELBS. Bailliere Tindal, London. 425-487.
- Fardiaz, S. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. PT Prasindo Persada, Jakarta.
- Jekti, R. P. 2007. *Pencemaran Bahan Makanan oleh Mikroba*. Pusat Penelitian Penyakit Menular, Badan Penelitian & Pengembangan Kesehatan
- Savige, R. 2005. Canine Mastitis, In: <http://www.in-pet.com/article/canine-mastitis-by-russell-savige-18210.html> Todar, K. 2005. *Staphylococcus*. Todar's Oneline The Textbook of Bacteriology. University of Wisconsin-Madison Departement of Microbiology. <http://textbookofbacteriology.net/staph.html>
- Todar, K. 2005. *Staphylococcus*. Todar's Oneline The Text Book of Bacteriology, University of Wisconsin - Madison Department of Microbiology. <http://textbookofbacteriology.net/staph.html>