

## Isolasi dan Identifikasi Bakteri pada Susu Mastitis Subklinis di Balai Besar Pelatihan Peternakan Batu

Reni Indarwati<sup>1\*</sup>, Widya Ayu Pradini<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Balai Besar Pelatihan Peternakan Batu, Jl. Songgoriti No.24 Batu

\*Email koresponden: reniindar75@gmail.com

**Kata kunci** : isolasi, mastitis subklinis, CMT

### PENDAHULUAN

Mastitis subklinis merupakan penyakit yang berpengaruh besar dalam peternakan sapi perah, diantaranya adalah terjadinya penurunan produksi dan kualitas susu. Ada dua jenis mastitis yaitu, mastitis kontagiosa dan mastitis karena faktor lingkungan. Mastitis kontagiosa terjadi karena penularan dari sapi ke sapi. Penyakit ini sering berbentuk mastitis subklinis, sebagian besar bakteri penyebab mastitis kontagiosa adalah *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus agalactiae* [3]. Sedangkan mastitis karena faktor lingkungan terjadi karena penularan dari lingkungan ke sapi. Angka kejadian mastitis meningkat seiring dengan kondisi sanitasi lingkungan yang buruk. Sebagian besar bakteri penyebab mastitis jenis ini adalah bakteri *coliform*, *Streptococcal sp.* dan *Pseudomonas sp.* [3]. Pada mastitis subklinis sering tidak terdeteksi oleh peternak karena tidak terlihat perubahan pada susu maupun ambing. Untuk mendeteksi penyakit mastitis subklinis ini dapat menggunakan *California Mastitis Test* (CMT). Deteksi dini terhadap mastitis subklinis dan bakteri penyebabnya akan mempermudah dalam penanganan penyakit ini.

### MATERI DAN METODE

Sebanyak 15 ekor sapi perah laktasi *Frisien Holstein* (FH) milik BBPP Batu diambil sampel susunya kemudian dilakukan uji *California Mastitis Test* (CMT) untuk mengetahui sapi yang terserang mastitis subklinis. Sampel yang positif mastitis subklinis kemudian dilakukan isolasi bakteri dengan menggunakan media *Blood Agar Plate* (BPA) untuk membedakan *Streptococci* berdasarkan aktivitas hemolitiknya dan media *Mannitol Salt Agar* (MSA) untuk mengisolasi bakteri *Staphylococcus sp.* Selain itu, dilakukan juga pewarnaan gram dengan kristal violet, untuk melihat apakah bakteri penyebab mastitis subklinis tersebut gram positif atau negatif; uji Katalase untuk membedakan antara *Staphylococcus sp.* dengan *Streptococcus sp.*; dan uji Koagulase untuk membedakan produksi koagulase *Staphylococcus aureus* dari spesies yang lain.

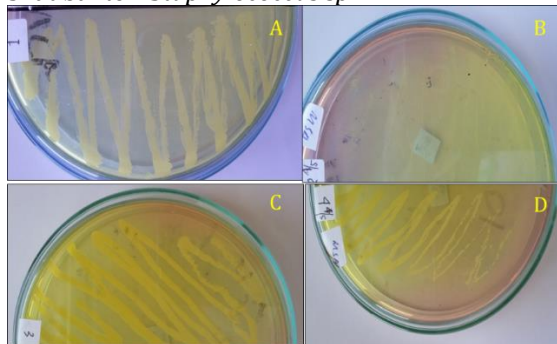
### HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji CMT terhadap 15 ekor sapi FH, ada 4 ekor sapi yang menunjukkan hasil positif mastitis subklinis (Tabel 1). Dari keempat ekor sapi tersebut kemudian diambil sampel susunya untuk dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri.

**Tabel 1.** Hasil Uji *California Mastitis Test* (CMT)

Identitas /nomor sapi	Lokasi puting yang terserang mastitis subklinis	Hasil uji CMT
101	depan-kiri	+++
21	depan-kanan	++
38	depan-kiri	+++
20	belakang-kanan	+++

Hanya ada satu sampel susu yang tidak mengalami kontaminasi ketika ditumbuhkan pada media BAP, sedang 3 sampel yang lain terkontaminasi, sehingga semua sampel susu langsung ditumbuhkan pada media MSA. Hasil isolasi pada media MSA didapatkan bahwa tiga sampel susu yang ditanam dalam media tersebut berwarna kuning (sampel susu sapi no.101,38 dan 20), artinya bahwa bakteri tersebut dapat memfermentasi mannitol [2] (Gambar 1). Kemampuan memfermentasi mannitol merupakan sifat bakteri *Staphylococcus sp.*



**Gambar 1.** Sampel susu yang ditanam dalam media MSA : A. Sampel susu sapi no.101; B. Sampel susu sapi no.21; C. Sampel susu sapi no.38; D. Sampel susu sapi no.20

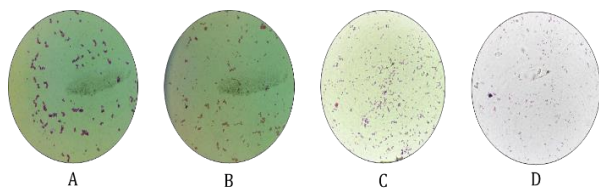
Koloni yang terbentuk berbentuk bulat besar, bulat kecil, berkelompok seperti buah anggur,

beberapa irreguler dengan warna putih dan kuning terdapat zona bening hemolisis. Zona ini terbentuk karena adanya toksin hemolisin yang diproduksi oleh *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini merupakan bakteri pembentuk enterotoksin yang dapat menyebabkan keracunan pangan [4].

Menurut Aryal (2016), MSA merupakan media selektif dan diferensial untuk identifikasi *Staphylococcus sp.* Media ini mengandung garam natrium klorida 7,5% sehingga media ini menjadi media selektif. Karena sebagian besar bakteri tidak dapat tumbuh pada konsentrasi garam 7,5% kecuali *Staphylococcus*. *Staphylococcus aureus* sendiri termasuk jenis bakteri yang tidak mudah untuk diisolasi karena umumnya bercampur dengan flora normal *coagulase negative Staphylococcus* (CoNS) yaitu *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus haemolyticus*.

Hingga saat ini belum ditemukan media selektif untuk isolasi dan identifikasi koloni ini secara langsung, namun media MSA masih dianggap memberikan hasil yang baik sehingga direkomendasikan baik oleh *British Society for Antimicrobial Chemotherapy* (BSAC) maupun *National Committee for Clinical Laboratory Standard* (NCCLS) dan pada saat ini secara luas digunakan di seluruh dunia untuk mengisolasi *Staphylococcus aureus* [4]. Bakteri yang merubah media MSA menjadi kuning kemudian dilakukan pemurnian dan diperbanyak pada media MSA, kemudian dilakukan uji lanjutan yaitu tahap identifikasi. Tahap identifikasi meliputi pewarnaan gram, uji katalase, dan uji koagulase.

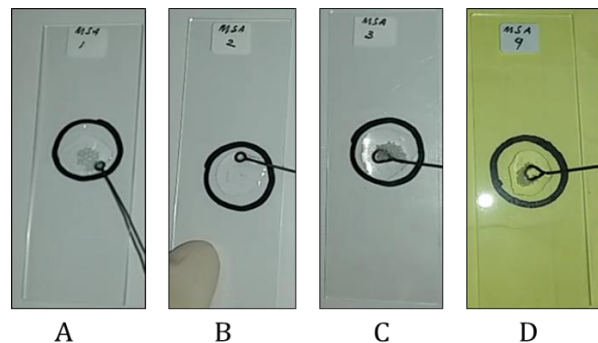
Pewarnaan gram digunakan untuk melihat bentuk bakteri melalui mikroskop dan untuk menentukan bakteri gram positif atau gram negatif. Hasil pewarnaan gram menunjukkan bahwa keempat isolat bakteri adalah bakteri gram positif, karena sel bakterinya berwarna ungu, isolat-isolat yang diduga *Staphylococcus sp.* (sampel susu sapi no 101, 38 dan 20) secara morfologi terlihat sel bakterinya berwarna ungu, bulat, bergerombol seperti anggur (Gambar 2).



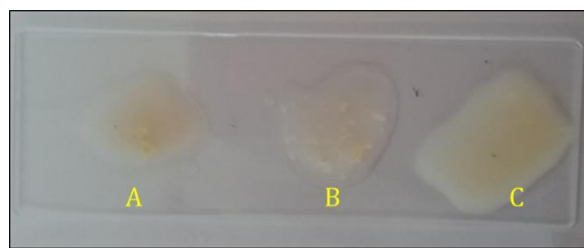
**Gambar 2.** Gambaran mikroskopis bakteri dengan pewarnaan gram: A. Sampel susu sapi no 101; B. Sampel susu sapi no.21; C. Sampel susu sapi no.38; D. Sampel susu sapi no.20.

Hasil uji katalase juga menunjukkan bahwa isolat dari sampel susu sapi no.101,38 dan 20 terbentuk gelembung gas, setelah ditetesi  $H_2O_2$  3% (Gambar 3). Bakteri *Staphylococcus sp.* menghasilkan enzim katalase yang mampu

menghidrolisis hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi air ( $H_2O$ ) dan gelembung gas ( $O_2$ ). Untuk mengetahui spesies bakteri, maka dilanjutkan dengan uji koagulase pada 3 isolat yang positif *Staphylococcus sp.* (sampel susu sapi no.101,38 dan 20). Uji ini untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan spesies *Staphylococcus* yang lain. Bakteri *S.aureus* mampu mengkoagulasi plasma darah pada uji koagulase ini. Hasil uji koagulase menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut adalah bakteri *Staphylococcus aureus*, karena terlihat adanya koagulasi plasma darah (Gambar 4). Koagulase merupakan protein ekstraseluler yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* yang dapat menggumpalkan plasma dengan bantuan faktor yang terdapat dalam serum. Reaksi koagulase terjadi berdasarkan reaksi antara *Staphylococcus aureus* dengan fibrinogen yang terdapat dalam serum yang ditunjukkan dengan adanya gumpalan koagulase pada gelas obyek [2].



**Gambar 3.** Hasil uji Katalase : A.sampel susu sapi no.101 (terbentuk gelembung);B.sampel susu sapi no.21 (tidak terbentuk gelembung);C.sampel susu sapi no.38 (terbentuk gelembung);D.sampel susu sapi no.20 (terbentuk gelembung)



**Gambar 4.** Terjadi koagulasi plasma darah pada hasil uji Koagulase : A.sampel susu sapi no.101; B.sampel susu sapi no.38; C.sampel susu sapi no.20

## SIMPULAN

Dari keempat sampel susu sapi perah di BBPP Batu berhasil diisolasi dan diidentifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 3 isolat, yaitu berasal dari sampel susu sapi nomor 101, 38 dan 20 serta 1 isolat bakteri *Streptococcus sp.* dari sampel susu sapi nomor 21.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Balai

Besar Pelatihan Peternakan Batu dan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya yang telah membantu dan memfasilitasi penelitian ini sehingga bisa tersusun dan dipresentasikan pada Kongres Ilmiah Veteriner Nasional.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Aryal S. 2016. Mannitol Salt Agar for the Isolation of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology Info*. Department of Microbiology St. Xavier's College. Nepal.
- [2] Dewi AK. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sains Veteriner*. 31 (2): 0126 – 0421.
- [3] Effendi MH. 2008. Visualisasi Komponen Protein Permukaan *Staphylococcus aureus* dari Susu Sapi Perah Penderita Mastitis. *Veterinary Medicine Journal*. 24 (2) : 92-97.
- [4] Herlina NF, Afiati AD, Cahyo PD, Herdiyani Q, Tappa B. 2015. Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* dari Susu Masitis Subklinis di Tasikmalaya, Jawa Barat. *Prosesing Seminar Nasional Masyarakat Biodiversi Indonesia*. 1 (3): 413-417