

SKRIPSI :

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI CORYNEBACTERIUM PYOGENES
DARI MUKOSA VAGINA SAPI YANG DIPOTONG DIRUMAH
POTONG HEWAN KOTAMADYA MOJOKERTO

MOCH AMIN

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI CORYNEBACTERIUM
PYOGENES DARI MUKOSA VAGINA SAPI YANG
DIPOTONG DIRUMAH POTONG HEWAN
KOTAMADYA MOJOKERTO**



**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1985**

UCAPAN TERIMA KASIH

Tulisan ini disusun berdasarkan survey, yang merupakan salah satu syarat untuk menempuh ujian Dokter Hewan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Drh. Midian Naibaho (Kepala Bagian Mikrobiologi) - dan Drh. Chusnan Effendi MS (Kepala Laboratorium Ilmu Penyakit Dalam) Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penulisan ini, juga kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan antara lain : Kepala Rumah Pemo-tongan Hewan Kotamadya Mojokerto beserta staf, para dosen dan laboran di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Semoga tulisan ini bermanfaat untuk pengembangan dalam bidang peternakan khususnya dalam ilmu Kedokteran Hewan.

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR LAMPIRAN	iii
DAFTAR TABEL	iv
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
1. Sejarah Penyakit	4
2. Morfologi dan Sifat Pewarnaan ..	5
3. Resistensi	5
4. Sifat Pupukan	6
5. Struktur Antigenik dan Toxin ...	7
6. Pathogenitas dan Pathogenesa ...	8
BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA	10
1. Bahan	10
2. Cara Kerja	10
1. Pemeriksaan mikroskopis	10
2. Pemupukan	12
3. Uji biokimiawi	12
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	19
BAB VI. RINGKASAN	20
DAFTAR KEPUSTAKAAN	28

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
LAMPIRAN 1. Medium Serum Agar plus garam Tellurite	22
2. Media gula-gula	23
3. Medium Semi Solid Agar	23
4. Medium Triple Sugar Iron Agar	23
5. Media MR - VP	24
6. Medium Nitrat	25
7. Medium Litmus Milk	25

DAFTAR TABEL

	Halaman
TABEL I. Hasil pemeriksaan mikroskopis dari biakan murni	26
TABEL II. Hasil uji Biokimiawi	27

BAB I

PENDAHULUAN

Selaras dengan pertambahan jumlah penduduk dan kesadaran masyarakat akan pentingnya gizi makanan serta naiknya daya beli, maka terjadi pula peningkatan kebutuhan akan protein hewani. Hal ini akan mendorong pemerintah untuk meningkatkan produksi hasil peternakan dalam program pembangunannya yang sampai saat ini sudah menginjak pada PELITA ke-IV tahun kedua.

Untuk pengadaan protein hewani, maka pemerintah berusaha untuk meningkatkan populasi ternak, manajemen di bidang peternakan, pengendalian penyakit serta perbaikan mutu makanan ternak.

Gangguan reproduksi pada ternak sapi, terutama disebabkan penyakit pada alat kelamin yang merupakan salah satu faktor penghambat dalam usaha peningkatan di bidang peternakan, yang perlu mendapat perhatian lebih besar.

Penyakit infeksi pada alat kelamin dapat merupakan penyakit kelamin menular ataupun tidak menular. Penyakit kelamin menular dapat disebabkan oleh kuman yang khusus, seperti Brucellosis, Vibriosis, Leptospirosis dan Listeriosis. Sedangkan yang tidak khusus adalah infeksi oleh kuman yang secara normal terdapat didalam alat kelamin baik hewan betina maupun jantan tanpa menyebabkan gangguan kese-

hatan alat kelamin hewan yang bersangkutan. Menurut Arthur (1978) kuman-kuman yang termasuk tidak khusus pada alat kelamin sapi adalah Corynebacterium pyogenes, Streptococcus sp, Staphylococcus sp, dan Escherichia coli.

Corynebacterium pyogenes secara normal terdapat pada mukosa vagina sapi dan tidak menimbulkan gangguan kesehatan. Tetapi bila terjadi luka pada mukosa (sebagai akibat kesulitan melahirkan, retensio secundarium atau penanganan alat kelamin yang kurang hati-hati) maka Corynebacterium pyogenes dapat menginfeksi, akibatnya terjadi proses pernanahan. Infeksi dapat meluas kedepan yaitu kedepan cervix, endometrium yang menyebabkan cervicitis, endometritis dan pyometra. Akibat yang lebih parah dari infeksi Corynebacterium pyogenes pada sebagian besar ternak sapi adalah pada proses pembuahan, abortus dan terjadinya penurunan kesuburan (infertilitas). Bila keadaan ini sampai berlarut-larut (tidak segera ditangani), maka dapat terjadi kenajiran (sterilitas).

Pada peternakan di negara yang sedang berkembang yang pemeliharaan ternaknya masih tradisional dan sederhana dengan tingkat kesehatan hewannya dan sanitasi lingkungan yang rendah, sering menghambat tingkat produktivitas ternak sehingga cara penanggulangan dan pemberantasannya perlu mendapat perhatian. Pencegahan terhadap infeksi Corynebacterium pyogenes dapat dilakukan dengan pemberian pre-

parat antibiotik atau preparat sulfa bila dijumpai kasus-kasus kesulitan melahirkan (*dystokia*), *retensio secundinarium*, abortus dan lain-lain penyebab terjadinya luka pada alat kelamin. Sanitasi lingkungan yang dijaga dengan baik sangat membantu mencegah penyebaran dari *Corynebacterium pyogenes* ini.

Untuk mengetahui sampai berapa banyak prosentase kejadian infeksi *Corynebacterium pyogenes* pada sapi, maka penulis ingin mengadakan survey terhadap sapi-sapi yang di potong di Rumah Potong Hewan Kotamadya Mojokerto dengan nengambil 40 sampel mukosa vagina. Hasil yang didapat diha-rapkan nantinya dapat memberikan gambaran sampai seberapa jauh peranan kuman *Corynebacterium pyogenes* dalam menyebab-kan infeksi pada alat kelamin. Penelitian ini dilakukan da-ri tanggal : 1 Pebruari sampai dengan 20 April 1985.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1. Sejarah Penyakit

Corynebacterium pyogenes tersebar luas diseluruh dunia, terutama dalam proses pernanahan dan lesi-lesi granulomatosa. *Corynebacterium pyogenes* dapat ditemukan pada selaput mukosa mulut, hidung dan vagina dari sapi yang sehat (Soltys, 1963).

Corynebacterium pyogenes pertama kali diisolasi oleh Kitt (1890) dari babi yang menderita pneumonia. Pada tahun 1893 Lucet berhasil mengisolasi *Corynebacterium pyogenes* dari abses pada sapi betina. Selanjutnya Poels - (1897) menemukan *Corynebacterium pyogenes* sebagai penyebab arthritis pada anak sapi. Grips (1902) menemukan *Corynebacterium pyogenes* dari babi yang menderita pneumonia dan proses pernanahan. Kunenman (1903) juga berhasil mengisolasi *Corynebacterium pyogenes* dari kasus-kasus pernanahan pada sapi betina. Glage (1903) mempelajari strain *Corynebacterium pyogenes* pada sapi dan babi serta menyimpulkan bahwa kedua strain *Corynebacterium pyogenes* tersebut adalah identik (Merchant and Packer 1961).

Menurut Lovell (1937) bahwa *Corynebacterium pyogenes* ada hubungannya dengan proses pernanahan pada sapi,

babi, kambing dan domba. MacLean (1946) mengisolasi kuman bentuk batang menyerupai *Corynebacterium pyogenes* dari nasopharynx dan kulit tentara Amerika yang terinfeksi, di kepulauan Pasifik yang kemudian kuman tersebut disebut *Corynebacterium hemolyticum*. Penelitian selanjutnya oleh Barksdale (1957) menunjukkan bahwa *Corynebacterium hemolyticum* merupakan bentuk mutasi dari *Corynebacterium pyogenes* (Soltys, 1963).

2. Morfologi dan sifat pewarnaan

Corynebacterium pyogenes berbentuk batang pendek, cocco-bacillus atau pleomorphic dengan ukuran panjang berkisar antara 0,5 sampai 2,0 mikron dan penampangnya 0,2 - sampai 0,3 mikron. Letak kuman dapat sendiri-sendiri tetapi ada tendensi berjajar. Pada pewarnaan Gram, *Corynebacterium pyogenes* bersifat Gram positif, tidak membentuk kapsul dan tidak mempunyai flagella serta tidak tahan asam. Pada *Corynebacterium pyogenes* tidak didapatkan granula metachromatik. *Corynebacterium pyogenes* tidak bergerak - atau non motil (Merchant and Packer 1961).

3. Resistensi

Corynebacterium pyogenes sensitip terhadap antibiotik penicillin tetapi pada proses infeksi yang bernanah - ternyata nanah, merupakan penghalang bagi antibiotik untuk kontak dengan kumannya. *Corynebacterium pyogenes* juga -

sensitif terhadap desinfektan biasa tetapi yang paling baik adalah lysol dan yodium 2%. Lugol 0,25% sering dipakai sebagai antiseptik pada infeksi yang disebabkan oleh *Corynebacterium pyogenes*.

4. Sifat pupukan

Corynebacterium pyogenes tumbuh pada keadaan aerobik atau fakultatif anaerobik, suhu optimum untuk pertumbuhan 37°C dan pH 7,4 sampai 7,6. Pada medium agar darah *Corynebacterium pyogenes* dapat melisiskan butir-butir darah merah dan membentuk beta hemolysis. Media yang paling baik untuk pertumbuhan *Corynebacterium pyogenes* adalah - agar darah, kaldu darah dan susu (Merchant and Packer - 1961). Bila digunakan media serum darah yang mengandung garam tellurite maka koloni tampak berbentuk bulat kecil berwarna hitam dan dikelilingi beta hemolysis.

Dalam media cair kuman ini menyebabkan kekeruhan pada dasar tabung. Pada media TSIA *Corynebacterium pyogenes* merubah warna bagian miring (slant) menjadi warna kuning (asam) tetapi tidak membentuk gas dan tidak menghasilkan H₂S. *Corynebacterium pyogenes* tidak baik tumbuhnya pada media McConkey atau media lain yang mengandung kentang.

Corynebacterium pyogenes membentuk asam tanpa gas dari glukosa, maltosa, galaktosa, fruktosa, sukrosa, tetapi tidak dari arabinosa, xylosa, salisin, dulcitol, mannitol dan glyserol.

Riff dan Brown menyatakan bahwa bila Corynebacterium pyogenes dipupuk pada media yang tidak mengandung serum darah, maka Corynebacterium pyogenes mempunyai daya sakarelitik yang besar sehingga dapat memfermentasikan arabinosa salisin, mannitol dan glyserol, sedangkan dulcitol tetap tidak dapat difermentasikan. Pada media semi solid Corynebacterium pyogenes tumbuh pada bekas tusukan tetapi tidak disertai bentuk serabut pada tepinya serta tidak membentuk indol. Sifat-sifat biokimiawi lain yang dimiliki oleh Corynebacterium pyogenes adalah tidak mereduksi nitrat, negatif terhadap uji Voges Proskauer dan Methyl Red, mengasamkan dan mengkoagulasikan litmus milk, juga mampu mencairkan albumin, kuning telur dan media yang mengandung gelatin (Merchant and Packer, 1961; Hagan dkk, 1973).

5. Struktur Antigenik dan Toksin

Struktur antigenik Corynebacterium pyogenes masih belum banyak diketahui. Corynebacterium pyogenes menghasilkan eksotoksin antara lain nekrotoksin dan hemolytik toksin (hemolysin). Nekrotoksin dapat menyebabkan nekrose pada jaringan yang terinfeksi sedangkan hemolysin mempunyai daya melisis darah merah hewan, mematikan kelinci dan menimbulkan nekrose kulit pada marmot. Sifat-sifat lain yang dimiliki hemolysin dari Corynebacterium pyogenes menurut penelitian Takeuchi dkk (1979) yang menunjukkan bahwa aktifitas hemolytik dari hemolysin dapat dirusak oleh

beberapa enzim proteolitik yaitu protease atau trypsin tetapi pepsin tidak dapat merusaknya. Sensitivitas erythro-sit hewan terhadap hemolysin menurut penelitian Takeuchi - dkk (1979) berturut-turut adalah kelinci, kuda dan babi, baru kemudian erythro-sit yang berasal dari kambing dan sapi. Kebanyakan hemolysin masih aktif pada pemanasan 40°C sampai 50°C selama 10 menit, tetapi kalau diinkubasi pada 60°C maka hemolysin tersebut kehilangan 97% dari aktifitas sesungguhnya. (Takeuchi dkk, 1979).

6. Pathogenitas dan Pathogenese

Corynebacterium pyogenes sering menyebabkan proses pernanahan pada sapi, babi, domba dan kambing. Pada sapi - kasus biasanya bersifat khronis seperti mastitis, pneumonia suppuratif, lesi-lesi menyerupai actinomycosis, abses pada peritonium dan cavum thorax karena trauma serta arthritis. Sedangkan pada anak sapi dapat menyebabkan pneumonia suppuratif khronis, infeksi tali pusar dan arthritis (Merchant dkk, 1961). *Corynebacterium pyogenes* sering menyebabkan endometritis dan pyometra terutama setelah sapi melahirkan (post partum) atau bila mengalami retensio secundinarium. Menurut Rowson (1953) bahwa uterus sapi selama oestrus menjadi resisten terhadap infeksi *Corynebacterium pyogenes*, tetapi selama phase luteal mudah terinfeksi - sehingga endometritis dan pyometra sering terjadi (Soltys, 1963). *Corynebacterium pyogenes* secara normal ditemukan di dalam vagina bagian posterior, juga *E.coli*, *Streptococcus*

dan *Staphylococcus*. Bila terjadi luka pada selaput mukosa vagina yang disebabkan oleh karena kesulitan sewaktu melahirkan (*distokia*), *retensio secundinarium* atau penanganan yang kurang hati-hati maka *Corynebacterium pyogenes* dapat dengan cepat menginfeksi luka tersebut sehingga terjadi radadang yang bersifat suppuratif pada vagina (*vaginitis*).

Dari kejadian *vaginitis*, infeksi dapat meluas kedepan yaitu pada *cervic*, *endometrium* bahkan sampai ke *tuba falopii*. Pada *endometritis* dapat terbentuk jaringan parut sehingga merupakan penghalang bagi *blastosis* untuk mengadakan *im*plantasi. Akibat dari nanah hasil produksi *Corynebacterium pyogenes* yang terkumpul didalam rongga uterus (*pyometra*) - disertai dengan adanya pembesaran *corpus luteum* di *ovari*um, maka terjadi pembesaran rongga uterus. Secara sepintas lalu, *pyometra* sulit dibedakan dengan uterus sapi yang gravid tetapi dengan palpasi rektal dapat dibedakan. Pada pyometra tidak didapatkan *foetus* dalam rongga uterusnya.

Terjadinya radang pada *tuba falopii* akan mempermudah timbulnya perlekatan antara dinding *tuba falopii* dengan *bursa ovarii* dan kemudian terjadi penyempitan lumen *tuba falopii* tersebut. Pada penyempitan ini dapat diikuti oleh adanya - dilatasi dibeberapa bagian dari *tuba* yang sifatnya sistis. Siste pada *tuba falopii*, terjadi karena tertinggalnya cairan dalam lumen *tuba* dan keadaan ini disebut *pyosalping* bila isinya nanah dan disebut *hydrosalping* bila isinya cairan encer (Robert, 1971).

BAB III

BAHAN DAN CARA KERJA

I Bahan

Bahan untuk pemeriksaan berupa mukosa vagina sapi yang telah dipotong di Rumah Potong Hewan Kotamadya Mojokerto. Bahan diambil secara random sebanyak 40 sampel mukosa vagina, dimasukkan kedalam termos es langsung dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya untuk diperiksa.

II Cara Kerja

Pemeriksaan dilakukan secara Laboratoris (mikroskopis, pemupukan dan uji biokimiawi)

1. Pemeriksaan mikroskopis

Setiap sampel diperiksa secara mikroskopis. Pemeriksaan mikroskopis dilakukan pada preparat ulas mukosa vagina secara natip, pewarnaan sederhana (Methylen blue) dan pewarnaan Gram.

1.1. Pemeriksaan preparat natip

Pemeriksaan preparat natip bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya pergerakan kuman. Suspensi mukosa vagina - diambil dengan ose, diletakkan diatas object glass, ditutup dengan cover glass, kemudian diperiksa dibawah - mikroskop dengan pembesaran 1000 kali.

1.2. Pewarnaan Methylen blue

Pewarnaan dengan Methylen blue bertujuan untuk mengetahui bentuk, susunan dan struktur bipoler kuman. Suspensi mukosa vagina diambil dengan ose, dibuat preparat ulas pada object glass, fiksasi diatas api, lalu diwarnai dengan Methylen blue selama 2 sampai 3 menit dicuci dengan air kran, dikeringkan dengan kertas penghisap lalu diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali dan diberi minyak emersi. Pada pemeriksaan *Corynebacterium pyogenes* tampak berbentuk batang pendek atau cocco-bacillus, tidak berspora dan ukuran panjangnya bervariasi.

1.3. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengetahui sifat Gram positif dan Gram negatif. Suspensi mukosa vagina diambil dengan ose, dibuat preparat ulas pada object glass, fiksasi diatas api, lalu diwarnai dengan Carbol Gentian Violet selama 2 menit, zat warna dibuang, kemudian ditetesi lugol selama 1 menit, dilunturkan dengan alkohol aceton, lalu dicuci dengan air kran, kemudian diwarnai dengan Safranin 2% selama 2 menit, dicuci dengan air kran, lalu dikeringkan dengan kertas penghisap, lalu diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali dan diberi minyak emersi. Pada pemeriksaan ini *Corynebacterium* sp. tampak berwarna violet karena bersifat Gram positif.

2. Pemupukan

Pemupukan *Corynebacterium pyogenes* dilakukan pada media Serum Agar yang ditambah Natrium tellurite. Medium Serum Agar merupakan medium untuk menumbuhkan dan memperbanyak kuman. Suspensi mukosa vagina diambil dengan ose, lalu dipupuk pada Serum Agar, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C didalam inkubator selama 24 jam. Selanjutnya dari hasil pupukan dilakukan pemeriksaan mikroskopis yaitu dengan menggunakan pewarnaan Methylene blue, Gram dan pemeriksaan preparat natip bila ada koloni yang tumbuh (koloni kecil berwarna hitam dikelilingi zona beta hemolysis). Untuk memperbanyak kuman dan mencegah kontaminasi dari koloni kuman yang tidak diharapkan, maka dilakukan isolasi koloni yang tumbuh pada Serum Agar lain. Koloni murni yang tumbuh pada Serum Agar dengan needle dipupuk dengan cara menggeserkan needle pada tabung yang mengandung Serum Agar miring lalu diinkubasikan pada suhu 37°C didalam inkubator selama 24 jam.

3. Uji Biokimiawi

3.1. Triple Sugar Iron Agar

Pemupukan pada media Triple Sugar Iron Agar dimaksudkan untuk identifikasi kuman yang memfermentasikan glukosa, sukrosa, laktosa serta kemampuan membentuk gas-hydrogen sulfide. Pemupukan dilakukan dengan mengambil kuman dari pupukan murni, lalu ditanam dengan cara tu-

sukan dan goresan pada permukaan, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. *Corynebacterium pyogenes* memberikan gambaran perubahan pada Triple Sugar Iron Agar sebagai berikut : basa (warna merah) dibagian miring, asam (warna kuning) dibagian bawah. Fermentasi gula oleh *Corynebacterium pyogenes* tidak disertai pembentukan gas, sehingga tidak terbentuk rongga atau celah dibagian bawah. *Corynebacterium pyogenes* pada perbenihan Triple Sugar Iron Agar tidak menghasilkan hydrogen sulfide sehingga tidak timbul warna hitam sebagai hasil reaksi antara hydrogen sulfide dari kuman dengan ferrum yang terdapat didalam Triple Sugar Iron Agar.

3.2. Semi Solid Agar

Pemupukan pada media Semi Solid Agar dimaksudkan untuk mengetahui pergerakan kuman dan kemampuan membentuk Indol. Untuk uji ini *Corynebacterium pyogenes* diambil dari pupukan murni lalu ditanam pada media dengan cara tusukan, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada media Semi Solid Agar pertumbuhan *Corynebacterium pyogenes* merupakan garis putih pada bekas tusukan dan tidak disertai bentuk serabut pada tepinya, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pergerakan kuman. Pada pemberian chloroform dan reagen Kovak's pada biakan, ternyata tidak membentuk Indol yang ditandai dengan terbentuknya cincin merah diantara reagen dan media.

3.3. Uji Voges Proskauer

Uji ini bertujuan untuk membedakan kuman famili Enterobacteriaceae (yang biasanya bereaksi positif) dengan kuman dari famili lain. Reaksi positif jika media berwarna merah muda. Kuman dipupuk pada media Voges Proskauer dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 2 sampai 3 hari kemudian pada media ditambahkan larutan KOH 10% dan alpha naphthol.

3.4. Uji Methyl Red

Tujuan dari uji ini sama dengan tujuan dari uji Voges Proskauer dan merupakan pasangannya. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna merah. Jika berwarna kuning berarti reaksi negatif. Pada media yang telah diinkubasikan selama 4 sampai 5 hari ditambahkan larutan Methyl Red.

3.5. Uji Nitrat

Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui apakah kuman mereduksi nitrat menjadi nitrit. Hal ini ditunjukkan dengan berubahnya warna kuning menjadi merah.

Kuman diambil dari biakan murni dengan ose kemudian diadukkan pada larutan nitrat dalam tabung reaksi dan diinkubasikan selama 24 jam. Pada uji nitrat Corynebacterium pyogenes tidak mereduksikan nitrat menjadi nitrit.

3.6. Uji Gula-gula

Pemeriksaan dilakukan dengan uji fermentasi terhadap gula-gula : glukosa, laktosa, mannitol, maltosa, sukrosa, galaktosa, dulcitol, inulin, arabinosa, manosa, xylosa dan salisin. Untuk uji gula-gula *Corynebacterium pyogenes* dipupuk lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada uji ini *Corynebacterium pyogenes* memfermentasikan glukosa, laktosa, maltosa, sukrosa, manosa, galaktosa. Fermentasi dari gula-gula tersebut menghasilkan asam, yang dapat ditunjukkan dengan adanya perubahan warna indikator phenol red dari merah menjadi kuning.

3.7. Uji Litmus Milk

Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui apakah kuman mampu mengkoagulasikan dan membentuk asam dari media litmus milk. Hal ini ditunjukkan dengan berubahnya warna dari merah menjadi kuning serta terdapatnya koagulum pada dasar tabung. Kuman diambil dari biakan murni dengan ose kemudian diadukkan pada media litmus milk dalam tabung reaksi dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada uji litmus milk *Corynebacterium pyogenes* mampu mengkoagulasikan litmus milk dan merubah warna merah menjadi kuning.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada pemeriksaan pupukan dari suspensi mukosa vagina sapi pada Serum Agar, seluruh sampel menunjukkan adanya pertumbuhan kuman. Pertumbuhan kuman pada Serum Agar ditandai dengan terlihatnya koloni-koloni. Pada pengamatan makroskopis koloni mempunyai bentuk bulat berukuran kecil yang merata pada permukaan Agar serta berwarna hitam.

Pada pemeriksaan mikroskopis dengan melalui pewarnaan Methylen Blue dari sejumlah 40 sampel yang diperiksa, 32 sampel memperlihatkan bentuk batang pendek atau coccobacillus, sedangkan disampel lainnya memperlihatkan bentuk bulat atau coccoid. Pemeriksaan Gram yang dilakukan, menunjukkan bahwa 40 sampel yang diperiksa adalah merupakan Gram positif. Berdasarkan bentuk kuman dan sifat pewarnaan Gram, maka 32 sampel tersebut dapat dicurigai sebagai species *Corynebacterium*. Untuk menegakkan diagnosa terhadap *Corynebacterium pyogenes* telah dilakukan uji biokimiawi pada 32 sampel yang dicurigai. Pada pemeriksaan biokimiawi 15 sampel yang dicurigai memperlihatkan hasil uji yang menunjukkan sebagai species *Corynebacterium pyogenes*.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa 15 diantara 40 sampel yang diperiksa (37,5%) dari sapi yang dipotong di Rumah Potong Hewan Kotamadya Mojokerto mengandung -

Corynebacterium pyogenes.

Arthur (1978) berpendapat bahwa *Corynebacterium pyogenes* merupakan flora normal pada mukosa vagina bagian posterior. Oleh karena pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan ante mortem dan pemeriksaan patologis, maka berdasarkan pendapat Arthur (1978) 15 sampel yang dinyatakan mengandung kuman *Corynebacterium pyogenes* kemungkinan dapat berasal dari sapi yang tidak menderita peradangan pada alat kelamin. Walaupun Arthur (1978) berpendapat bahwa *Corynebacterium pyogenes* merupakan flora normal tetapi pada penelitian ini, hanya didapatkan 37,5% dari sampel yang diperiksa mengandung kuman *Corynebacterium pyogenes*. Adanya perbedaan ini kemungkinan terletak pada metoda isolasi kuman yang dilakukan. Pada penelitian ini metoda untuk isolasi kuman dilakukan dengan cara pengerokan sebagian mukosa vagina dengan ose, sehingga terdapat kemungkinan tidak terambilnya kuman dibagian mukosa vagina lainnya. Hasil yang akan diperoleh kemungkinan berbeda bila dilakukan pengerokan pada seluruh atau sebagian besar mukosa vagina.

Beberapa ahli berpendapat bahwa *Corynebacterium pyogenes* dapat merupakan salah satu penyebab abortus pada sapi, sebagai akibat terjadinya placentitis yang berakhir dengan gangguan fungsi placenta dalam mempertahankan kehamilan. Sedangkan pada stadium kesembuhan dapat terbentuk

jaringan parut pada daerah yang terinfeksi sehingga mengganggu terjadinya implantasi (Adde and Dennis, 1975).

Laing (1979) dalam penelitiannya yang dilakukan di Inggris menyatakan bahwa 40% dari sapi penderita endometritis dapat ditemukan adanya kuman *Corynebacterium pyogenes*. Pada endometritis kuman *Corynebacterium pyogenes* selain dapat ditemukan pada mukosa vagina juga dapat ditemukan pada mukosa cervix bersama-sama dengan kuman *Listeria*, *Staphylococcus* sp atau *Escherichia coli*. Oleh karena itu kemungkinan kuman *Corynebacterium pyogenes* juga berperan sebagai salah satu penyebab terjadinya endometritis.

Pada penelitian ini, dari 15 sampel yang dinyatakan mengandung kuman *Corynebacterium pyogenes* kemungkinan dapat berasal dari ternak yang sedang menderita peradangan pada saluran alat kelamin. Hal ini tidak dapat diketahui dengan pasti oleh karena tidak dilakukannya pemeriksaan patologis pada seluruh saluran alat kelamin dalam penelitian ini. Pada keadaan tidak terjadi peradangan pada mukosa saluran alat kelamin terutama vagina dan endometrium maka jumlah kuman yang didapatkan pada mukosa akan lebih sedikit dibanding bila terdapat proses peradangan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

Setelah diadakan pemeriksaan terhadap sampel mukosa vagina sapi yang dipotong, ternyata 15 diantara 40 sampel (37,5%) mengandung *Corynebacterium pyogenes*. Walaupun *Corynebacterium pyogenes* merupakan kuman normal pada mukosa vagina tetapi dapat juga menyebabkan infeksi (tidak spesifik) pada saluran alat kelamin terutama sehabis mengalami kesulitan melahirkan dan retensio secundinarium. Lima belas sampel yang mengandung *Corynebacterium pyogenes* dapat berasal dari sapi yang sehat atau dapat pula berasal dari sapi yang sedang menderita peradangan pada alat kelaminnya. Dengan penyuluhan tentang kesehatan hewan dan pemeliharaan kebersihan lingkungan serta hygiene makanan dan minuman kepada masyarakat, diharapkan dapat mengurangi dan mencegah terjadinya infeksi *Corynebacterium pyogenes*.

Untuk mencegah dan menanggulangi adanya *Corynebacterium pyogenes* perlu peningkatan kewaspadaan terhadap infeksi *Corynebacterium pyogenes* oleh karena kuman ini merupakan salah satu kuman yang secara normal terdapat pada mukosa vagina sapi dan sering menyebabkan infeksi sewaktu hewan habis melahirkan (post partum). Peningkatan kewaspadaan dapat pula ditunjang dengan peningkatan penyuluhan kepada masyarakat dan peningkatan kerja sama lintas sektoral dalam pengawasan terhadap kesehatan hewan serta kesehatan lingkungan.

BAB VI

RINGKASAN

Infeksi *Corynebacterium pyogenes* pada sapi dapat menyebabkan vaginitis, endometritis, pyometra, cervicitis mastitis, arthritis sedangkan pada anak sapi dapat menyebabkan pneumonia.

Pada endometritis kuman ini dapat mengganggu kehidupan sel mani dalam perjalanannya ke tuba falopii. Pada endometritis yang khronis dapat menyebabkan pyometra dan terbentuknya korpus luteum persisten, tidak timbulnya birahi yang lama sekali dapat menyebabkan kemajiran.

Corynebacterium pyogenes berbentuk batang pendek atau cocco-bacillus dengan panjang 0,5 - 2,0 mikron, penampang 0,2 - 0,3 mikron, tidak bergerak, tidak membentuk spora dan tidak membentuk kapsul. Dengan pewarnaan Gram *Corynebacterium pyogenes* bersifat Gram positif.

Corynebacterium pyogenes tumbuh subur pada media Serum Agar yang mengandung garam tellurite atau agar darah. Kuman ini tumbuh pada keadaan aerobik pada suhu 37°C. Bila dipupuk pada perbenihan agar darah, koloni tampak bulat kecil berwarna hitam. Pada perbenihan cair maka perbenihan menjadi keruh dan terdapat endapan berwarna putih - keabu-abuan. Kuman ini memfermentasikan glukosa, laktosa,

maltosa, sukrosa, galaktosa, mannososa tetapi tidak memfermentasikan mannitol, dulcitol, inulin, salicin, xyloza dan arabinosa. Tidak mereduksi nitrat, uji Methyl red negatif, uji Voges Proskauer negatif, tidak membentuk indol, tidak membentuk gas dan H₂S negatif pada TSI agar, mengasamkan dan mengkoagulasikan litmus milk.

Bahan yang dipergunakan pada penelitian ini adalah mukosa vagina sapi. Sebanyak 40 sampel mukosa vagina sapi yang diambil dari Rumah Potong Hewan Kotamadya Mojokerto.

Setelah dilakukan pemeriksaan dari 40 sampel mukosa vagina sapi, terdapat 15 sampel yang menunjukkan hasil positif *Corynebacterium pyogenes*, berarti 37,5% sapi sampel yang dipotong di Rumah Potong Hewan Kotamadya Mojokerto mengandung *Corynebacterium pyogenes*.

LAMPIRAN

Pembuatan media

1. Medium Serum Agar plus garam tellurite

Bahan :

Nutrient agar	100 cc
Serum darah	10 cc
Natrium tellurite 1%	1 cc

Cara Pembuatan :

Pertama dibuat lebih dahulu Nutrient agar yang bahan-bahannya terdiri dari :

Meat extract	3,0 gram
Pepton from meat	5,0 gram
Agar-agar	12,0 gram

dibuat suspensi dari 20 gram nutrient agar didalam 1 liter aquades steril. Suspensi dipanaskan sampai mendidih sehingga seluruh agar-agar larut sempurna.

Setelah nutrient agar jadi, maka serum darah dan Natrium tellurite masing-masing sebanyak 10 cc - 1 cc ditambahkan pada nutrient agar. Kemudian dituangkan dalam tabung reaksi dan petri dish setelah itu disterilkan pada temperatur 121°C selama 15 menit.

2. Media gula-gula

Bahan :

Air pepton	100 cc
Gula-gula	2 gram
Phenol red	1 cc

Cara Pembuatan :

Gula-gula dilarutkan dalam air pepton.

Setelah larut sempurna baru ditetesi dengan phenol red.

Kemudian dituangkan dalam tabung reaksi dan disterilkan pada temperatur 121°C selama 15 menit.

3. Medium Semi Solid Agar

Bahan :

Tryptose	5 gram
Sodium chlorida	5 gram
Agar	4 gram

Cara Pembuatan :

14 gram semi solid agar dilarutkan dalam 1 liter aquades. Kemudian dipanaskan sampai mendidih hingga larut sempurna. Dimasukkan dalam tabung reaksi masing-masing 3 cc, kemudian disterilkan pada temperatur 121°C selama 15 menit.

Sesudah dingin dilakukan uji sterilitas.

4. Medium Triple Sugar Iron Agar

Bahan :

Meat extract	3,0 gram
--------------	----------

Yeast extract	3,0	gram
Pepton	20,0	gram
Lactosa	10,0	gram
Sukrosa	10,0	gram
Glukosa	1,0	gram
Ammonium Iron (III) citrat	0,5	gram
Sodium chlorida	5,0	gram
Sodium thiosulfate	0,5	gram
Phenol red	0,024	gram
Agar-agar	12,0	gram

Cara Pembuatan :

Diambil 65 gram Triple Sugar Iron Agar, dilarutkan dalam 1 liter aquades, dipanaskan sampai mendidih.

Dimasukkan dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 cc. Setelah itu tabung disterilkan pada temperatur 121⁰C selama 15 menit. Sesudah dingin dilakukan uji sterilitas.

5. Media MR - VP

Bahan :

Buffered pepton	7	gram
Dipotassium phosphate	5	gram
Bacto-Dextrose	5	gram

Cara Pembuatan :

Diambil 17 gram medium MR - VP, dilarutkan dalam satu liter aquades steril, kemudian dituangkan da

lam tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 cc. Setelah itu disterilkan pada temperatur 121°C selama 15 menit. Pada pembuatan test Methyl-Red akan diinkubasikan pada 30°C selama lima hari dan untuk reaksi Voges Proskauer selama 24 - 48 jam.

6. Medium Nitrat

Bahan :

Air pepton	100 cc
Kalium Nitrat	2 gram
Phenol red	1 gram

Cara Pembuatan :

Kalium nitrat dilarutkan dalam air pepton. Setelah larut sempurna baru ditetesi dengan phenol red kemudian dituangkan dalam tabung reaksi dan disterilkan pada temperatur 121°C selama 15-menit.

7. Medium Litmus milk

Bahan :

Skim milk	100 cc
Bromcresol purple 16% dalam larutan alkohol	1 cc

Cara Pembuatan :

Membuat lebih dahulu 100 cc larutan skim milk, kemudian ditetesi dengan 1 cc larutan bromcresol purple dan disterilkan pada temperatur 121°C selama 15 menit.

NO. 123456789

No.	Nama	Jenis	Volume	Tgl. Peng. / Peng. / Peng.
1	1	1	1	1/1/1
2	2	2	2	2/2/2
3	3	3	3	3/3/3
4	4	4	4	4/4/4
5	5	5	5	5/5/5
6	6	6	6	6/6/6
7	7	7	7	7/7/7
8	8	8	8	8/8/8
9	9	9	9	9/9/9
10	10	10	10	10/10/10
11	11	11	11	11/11/11
12	12	12	12	12/12/12
13	13	13	13	13/13/13
14	14	14	14	14/14/14
15	15	15	15	15/15/15
16	16	16	16	16/16/16
17	17	17	17	17/17/17
18	18	18	18	18/18/18
19	19	19	19	19/19/19
20	20	20	20	20/20/20
21	21	21	21	21/21/21
22	22	22	22	22/22/22
23	23	23	23	23/23/23
24	24	24	24	24/24/24
25	25	25	25	25/25/25
26	26	26	26	26/26/26
27	27	27	27	27/27/27
28	28	28	28	28/28/28
29	29	29	29	29/29/29
30	30	30	30	30/30/30
31	31	31	31	31/31/31
32	32	32	32	32/32/32
33	33	33	33	33/33/33
34	34	34	34	34/34/34
35	35	35	35	35/35/35
36	36	36	36	36/36/36
37	37	37	37	37/37/37
38	38	38	38	38/38/38
39	39	39	39	39/39/39
40	40	40	40	40/40/40
41	41	41	41	41/41/41
42	42	42	42	42/42/42
43	43	43	43	43/43/43
44	44	44	44	44/44/44
45	45	45	45	45/45/45
46	46	46	46	46/46/46
47	47	47	47	47/47/47
48	48	48	48	48/48/48
49	49	49	49	49/49/49
50	50	50	50	50/50/50
51	51	51	51	51/51/51
52	52	52	52	52/52/52
53	53	53	53	53/53/53
54	54	54	54	54/54/54
55	55	55	55	55/55/55
56	56	56	56	56/56/56
57	57	57	57	57/57/57
58	58	58	58	58/58/58
59	59	59	59	59/59/59
60	60	60	60	60/60/60
61	61	61	61	61/61/61
62	62	62	62	62/62/62
63	63	63	63	63/63/63
64	64	64	64	64/64/64
65	65	65	65	65/65/65
66	66	66	66	66/66/66
67	67	67	67	67/67/67
68	68	68	68	68/68/68
69	69	69	69	69/69/69
70	70	70	70	70/70/70
71	71	71	71	71/71/71
72	72	72	72	72/72/72
73	73	73	73	73/73/73
74	74	74	74	74/74/74
75	75	75	75	75/75/75
76	76	76	76	76/76/76
77	77	77	77	77/77/77
78	78	78	78	78/78/78
79	79	79	79	79/79/79
80	80	80	80	80/80/80
81	81	81	81	81/81/81
82	82	82	82	82/82/82
83	83	83	83	83/83/83
84	84	84	84	84/84/84
85	85	85	85	85/85/85
86	86	86	86	86/86/86
87	87	87	87	87/87/87
88	88	88	88	88/88/88
89	89	89	89	89/89/89
90	90	90	90	90/90/90
91	91	91	91	91/91/91
92	92	92	92	92/92/92
93	93	93	93	93/93/93
94	94	94	94	94/94/94
95	95	95	95	95/95/95
96	96	96	96	96/96/96
97	97	97	97	97/97/97
98	98	98	98	98/98/98
99	99	99	99	99/99/99
100	100	100	100	100/100/100

DAFTAR PUSTAKA

1. Adams, N.R. 1975. A Pathological and Bacteriological Abattoir Survey of The Reproductive Tracts of Merino ewes in Western Australia. Australian.Vet.Journ. 51 : 351 - 354.
2. Addo, P.B. and S.M.Dennis. 1975. Experimental Production of Corynebacterium pyogenes Abortion in sheep. Cornell Vet. 69 : 20 - 23.
3. Addo, P.B. and S.M.Dennis. 1977. Corynebacteria Associated with diseases of Cattle, Sheep, and Goats in Northern Nigeria. British.Vet.Journ. 133 : 334 - 339.
4. Arthur, G.H. 1978. Veterinary Reproduction and Obstetrics 4th Ed. English Language Book Society and Bailliere Tindall, London. 411 - 415, 436 - 440.
5. Cole, E.H. 1974. Veterinary Clinical Pathology. 2nd Ed. W.B. Saunders company, Philadelphia, London, Toronto p. 424 - 425.
6. Cottral, G.E. 1978. Manual of Standardized Methods for Veterinary Microbiology. Comstock Publishing a Division of Cornell University Press. Ithaca and London. p. 544 - 547.
7. Davis, L.E. and B. Abbitt. 1977. Clinical Pharmacology of Antibacterial Drugs in the Mare. J.A.V.M.A. 170 : 204 - 207.

8. Elliot, L., K.J. Mohan., H.T. Gier and G.B. Marion. 1968. Uterus of The Cow After Parturition Bacterial Content. *Am. J. Vet. Res.* 29 (1) : 77 - 81.
9. Gillespie, J.H. and J.F. Timony. 1981. Hagan and Bruner's. *Infections Disease of Domestic Animals*. 7th Ed. Comstock Publishing Associates Cornell University, Ithaca and London. 226 - 229.
10. Jawetz, E., J.L. Melnick and E.A. Adelberg. 1980. *Review of Medical Microbiology*. 14th Ed. EGG. p. 295.
11. Laing, J.A. 1970. *Fertility and Infertility in Domestic Animals*. 2nd Ed. Bailliere, Tindall and Cassell, London. p. 298 - 303.
12. McCracken, A. and W.J. McCaughey. 1973. A Survey of Abscesses in Bacon Weight Pigs. *British. vet. J.* 129 : 359 - 361.
13. Merchant, I.A. and R.A. Packer. 1961. *Veterinary Bacteriology and Virology*. 6th Ed. Iowa States University - Press, Ames, Iowa. pp. 532 - 535, 84 - 87, 160 - 161
14. Miller, R.B. 1977. A Summary of some of The Pathogenetic Mechanisms involved in Bovine Abortion. *Can. Vet. J.* 18 (4) : 87 - 95.
15. Panangala, V.S. and D.A. Barnum. 1978. Antibiotic Resistance Patterns of Organisms Isolated from Cervico-Vaginal Mucus of Cows. *Can. Vet. J.* 19 : 113 - 118.

16. Panangala, V.S., N.A. Fish and D.A. Barnum. 1978. Microflora of the Cervico-Vaginal Mucus of Repeat Breeder Cows. *Can. vet. J.* 19 : 83 - 89.
17. Partodihardjo, S. 1980. Ilmu Reproduksi Hewan. Fakultas Kedokteran Veteriner Jurusan Reproduksi. IPB. Mutiara Jakarta. hal 344 - 345.
18. Sawyer, G.J. 1977. Observations on The Bacterial population of the Os Cervix of the ewe before and after - Embryo death. *Australian.Vet.Journ.* 53 : 542 - 544.
19. Schiefer, B., J.F.C.A. Pantekoek and R.E. Moffatt. 1974. The Pathology of Bovine Abortion Due to *Corynebacterium pyogenes*. *Can.Vet.J.* 15 : 322 - 326.
20. Soltys, M.A. 1963. Bacteria and Fungi Pathogenic to Man and Animals. 1st Ed. Bailliere Tindall and Cox, London p. 182 - 188.
21. Studer, E. and D.A. Morrow. 1978. Postpartum Evaluation of Bovine Reproductive Potential : Comparison of - Findings from Genital Tract Examination per Rectum, Uterine, and Endometrial Biopsy. *J.A.V.M.A.* 172 : 489 - 494.
22. Takeuchi, S., R.Azuma and T.Suto. 1979. Purification and Some Properties of Hemolysin Produced by *Corynebacterium pyogenes*. *Jap.J.Vet.Sci.* 41 : 511 - 516.
23. Toelihere, M.R. 1981. Ilmu Kemajiran Pada Ternak Sapi. Fakultas Kedokteran Hewan IPB. hal : 59 - 74.

24. Ward, G.E., J.E. Madl., R.H. Lyon. 1981. Mannitol Agar -
for Microbiologic Diagnosis of Bovine Mastitis.
J.A.V.M.A. 178 : 1061 - 1064.