

SKRIPSI

**ANALISIS KUANTITATIF RESIDU AMPICLOX DALAM
AIR SUSU SAPI PADA KASUS MASTITIS SUBKLINIS
DI WILAYAH KERJA KUD "SETIA KAWAN"**



OLEH :

SRI INDRARTI

SURABAYA - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1993**

ANALISIS KUANTITATIF RESIDU AMPICLOX DALAM
AIR SUSU SAPI PADA KASUS MASTITIS SUBKLINIS
DI WILAYAH KERJA KUD "SETIA KAWAN"

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

oleh

SRI INDRARTI

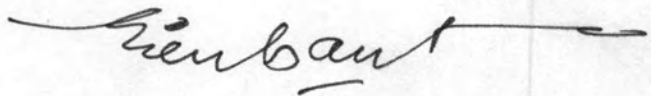
068811406

MENYETUJUI

Komisi Pembimbing



Dr. ISMUDIONO, M.S., Drh.
Pembimbing Pertama



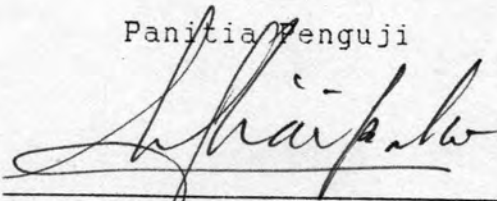
SOETJI PRAWESTHIRINI, S.U., Drh.
Pembimbing Kedua

(Halaman Pengesahan)

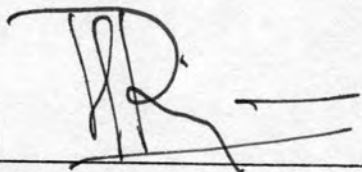
Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.

Menyetujui

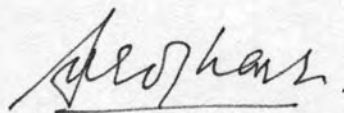
Panitia Penguji



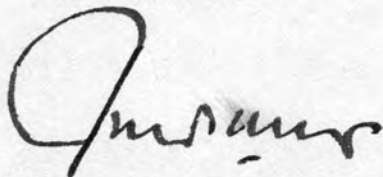
(Midian Maibaho, M.S., Drh)
Ketua



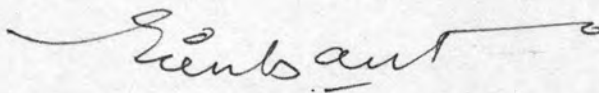
(Sorini Soehartojo, Drh)
Sekretaris



(Soedjiharti S., M.Phil, Ph.D., Drh)
Anggota



(Dr. Ismudiono, M.S., Drh)
Anggota



(Soetji Prawesthirini, S.U., Drh)
Anggota

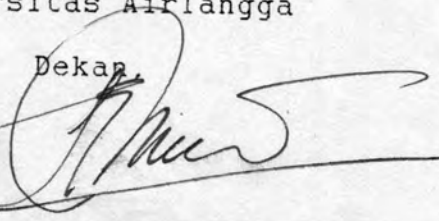
Surabaya, Agustus 1993

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga



Dekan



(Dr. H. Rochiman Sasmita, M.S., Drh)
NIP. 130350739

ANALISIS KUANTITATIF RESIDU AMPICLOX DALAM
AIR SUSU SAPI PADA KASUS MASTITIS SUBKLINIS
DI WILAYAH KERJA KUD "SETIA KAWAN"

SRI INDRARTI

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sampai seberapa jauh residu ampiclox yang berada dalam air susu pada kasus mastitis subklinis dapat dihitung secara kuantitatif, setelah dilakukan sekali pengobatan dengan ampiclox dosis terapi secara intramammae.

Sampel air susu sapi hasil pemerahan siang hari diambil secara aseptis pada 10 ekor sapi dari ambung yang menderita mastitis subklinis (positif tiga) dengan uji CMT (California Mastitis Test), selama enam hari berturut-turut setelah sekali pengobatan dengan ampiclox secara intramammae. Sebagai kontrol juga diambil sampel air susu dari ambung yang sehat pada sapi yang sama.

Metoda yang digunakan adalah Uji Sensitivitas metoda difusi secara in vitro berdasarkan diameter hambatan dari residu ampiclox yang terdapat dalam sampel air susu. Penetapan kadar residu ampiclox berdasarkan kurva baku ampiclox dari berbagai kadar. Pengujian kurva baku ampiclox menggunakan metoda Analisis Regresi Linear, sedangkan untuk mengetahui perbedaan kadar residu ampiclox dengan selang waktu pemeriksaan menggunakan sidik ragam dengan pola RAL (Rancangan Acak Lengkap).

Kurva baku ampiclox memberikan Uji Simpangan Model Linear positif ($p > 0.01$) yang menyatakan hubungan antara diameter hambatan (dalam mm) dengan kadar ampiclox (dalam dosis). Pada kontrol tidak terdapat residu ampiclox selama enam hari berturut-turut. Kadar residu ampiclox dalam sampel air susu pada kasus mastitis subklinis setelah sekali pengobatan secara intramammae menunjukkan hari ketiga meningkat ($p < 0.01$), kemudian menurun sampai dengan hari ke lima serta tidak terdapat kadar residu ampiclox pada hari keenam. Hal ini berarti bahwa kadar residu ampiclox dipengaruhi oleh selang waktu pemeriksaan setelah pengobatan. Air susu sapi baru dapat dikonsumsi pada hari keenam setelah sekali pengobatan dengan ampiclox secara intramammae berdasarkan batasan maksimal yang telah ditetapkan oleh WHO.

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Skripsi ini sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana dokter hewan pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada Bapak Dr. Ismudiono, M.S., drh dan Ibu Soetji Prawesthirini, S.U., drh selaku dosen pembimbing, serta Bapak Didiek Handijatno, M.S., drh yang telah meluangkan waktu dan tenaga guna memberikan bimbingan, saran dan nasehat yang berharga dalam penyusunan skripsi ini.

Ucapan yang sama penulis sampaikan kepada Bapak Midian Naibaho, M.S., drh selaku Kepala Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi FKH Unair dan Bapak Donny Asharinanto, drh sebagai Kepala Pusat Kesehatan Hewan KUD "Setia Kawan" Nongkojajar Kabupaten Pasuruan atas segala bantuan fasilitas yang telah diberikan untuk melaksanakan penelitian ini.

Demikian pula kepada semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu baik di lapangan maupun di laboratorium, penulis ucapkan terima kasih.

Rasa hormat dan terima kasih yang tak terhingga penulis sampaikan kepada orang tua, kakak, adik serta kekasih tercinta atas segala pengertian dan pengorbanannya sehingga dapat terselesaikannya penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu segala saran dan kritik yang bersifat membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan skripsi ini.

Harapan penulis semoga hasil yang dituangkan dalam skripsi ini dapat memberikan sumbangan yang berguna bagi dunia kedokteran hewan khususnya dan bagi masyarakat pada umumnya.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
BAB I. PENDAHULUAN	1
Latar Belakang Masalah	1
Perumusan Masalah	4
Tujuan Penelitian	4
Manfaat Penelitian	5
Hipotesis Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
Anatomi Ambing (kelenjar Susu)	6
Air susu	7
Mastitis	8
Penyebab Mastitis	10
Diagnosa Mastitis	10
Pengaruh Mastitis Terhadap Komposisi Air Susu	12
Pengobatan Terhadap Mastitis	13
Tinjauan Tentang Ampiclox (Ampisilin dan Kloksasilin)	14
Khasiat dan Efek Samping Ampiclox	17
Residu Ampiclox dan Efeknya Terhadap Konsumen	19
BAB III. MATERI DAN METODA PENELITIAN	21
Tempat dan Waktu Penelitian	21
Materi Penelitian	21

	vi
Metoda Penelitian	23
Rancangan Penelitian dan Analisis Data	27
Pengamatan Hasil Penelitian	28
BAB IV. HASIL PENELITIAN	29
BAB V. PEMBAHASAN	32
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	37
RINGKASAN	39
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	45

DAFTAR TABEL

Tabel

Halaman

1. Hasil Rataan Kadar Residu Ampiclox Dalam Air Susu Pada Kasus Mastitis Subklinis Setelah Sekali Pengobatan Secara Intra-mammae Berdasarkan Kurva Baku Ampiclox

30

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Penafsiran Hasil Uji California Mastitis Test (CMT)	46
2. Prosedur Tahapan Pengenceran Preparat Ampiclox dan Analisis Statistik Kurva Baku Ampiclox	48
3. Rataan Diameter Hambatan Residu Ampiclox Dari Sampel Air Susu yang Diobati Ampiclox Secara Intramammae Berdasarkan Metoda Difusi Test (mm)	54
4. Evaluasi Statistik Hasil Rataan Kadar Residu Ampiclox Dalam Air Susu Pada Ambing yang Diobati Secara Intramammae Berdasarkan Kurva Baku Ampiclox	55
5. Bagan Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	57
6. Cara Kerja Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	58
7. Peta Lokasi Wilayah Kerja Koperasi Unit Desa "Setia Kawan"	59
8. Daftar t	60
9. Daftar F	61
10. Gambaran Pengayuh CMT dan Reagen CMT	62
11. Gambaran Hasil CMT	62
12. Gambaran Koloni <i>Staphylococcus aureus</i> pada Media Blood Agar, hasil isolasi dari sampel mastitis subklinis	63
13. Gambaran Pemeriksaan Mikrobiologis Analisis Kuantitatif Residu Ampiclox Dalam Air Susu	63
14. Gambaran Anatomi Ambing	64

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Kimia Ampisilin	15
2. Struktur Kimia Kloksasilin	16
3. Kurva Rataan Kadar Residu Ampiclox Dalam Air Susu Setelah Sekali Pengobatan Secara Intramam- mae	31
4. Kurva Baku Ampiclox	53

BAB I

PENDAHULUAN

Latar Belakang Masalah

Air susu sapi merupakan salah satu sumber protein hewani yang mudah didapat serta mempunyai nilai gizi yang tinggi. Tersedianya air susu sebagai sumber protein hewani untuk pemenuhan gizi masyarakat bergantung pada populasi sapi perah, keadaan ternak serta cara pemeliharaan dan pengelolannya (Sarwedhi, 1990).

Populasi sapi perah di Indonesia yang makin bertambah banyak menimbulkan masalah kesehatan veteriner yang makin bertambah pula. Masalah gangguan kesehatan yang paling banyak menimbulkan kerugian ekonomi bagi usaha peternakan sapi perah adalah mastitis (Anonimus, 1987).

Mastitis adalah radang pada kelenjar air susu (ambing), penyebabnya dapat bersifat infeksius dan non infeksius dengan kejadian dalam bentuk klinis maupun subklinis. Kejadian mastitis subklinis 20 - 50 kali lebih sering dibanding mastitis klinis. Biasanya mastitis klinis merupakan kelanjutan dari mastitis subklinis (Mirnawati, 1985).

Dari segi ekonomis mastitis sangat merugikan peternak sapi perah, karena disamping dapat menurunkan produksi air susu dari sapi yang terserang, juga biaya pengobatan relatif mahal dan penyembuhan secara tuntas sering mengalami kesulitan (Anonimus, 1985 b).

Pengobatan mastitis pada umumnya menggunakan preparat antibiotika, baik secara intramammæ maupun intramuskular (Blood and Radostits, 1989). Antibiotika yang dipakai dapat berupa sediaan yang dilarutkan terlebih dahulu atau dalam bentuk sediaan yang siap pakai yang berisi satu macam atau kombinasi beberapa antibiotika (Anonimus, 1987). Salah satu antibiotika yang sering digunakan untuk pengobatan mastitis pada masa laktasi adalah ampiclox yang merupakan kombinasi ampisilin dan kloksasilin (Blood and Radostits, 1989).

Ampiclox selain diekskresikan melalui urine dan faeses, dapat juga diekskresikan melalui air susu. Ekskresi melalui air susu ini dapat menimbulkan masalah, sehingga adanya ampiclox di dalam air susu yang dikonsumsi berdampak negatif bagi kesehatan manusia (Jones *et al.*, 1977).

Pada umumnya para peternak sapi perah menjual langsung produksi air susunya dalam waktu 24 - 48 jam setelah pengobatan terakhir. Keadaan ini memungkinkan konsentrasi antibiotika dalam air susu masih tinggi (Sarwedhi, 1990).

Di wilayah kerja KUD "Setia Kawan" Nongkojajar Kabupaten Pasuruan, kejadian mastitis dari sapi-sapi yang produktif selalu dijumpai dengan tingkat kejadian 10 - 15 persen dari seluruh kasus yang ada setiap bulannya. Kejadian ini sering dihubungkan dengan sanitasi lingkungan dan higiene pemerah yang kurang bersih¹.

¹Data diperoleh dari catatan Kepala Pusat Kesehatan Hevan KUD "Setia Kawan" Nongkojajar Kabupaten Pasuruan.

Adanya residu ampiclox di dalam air susu perlu mendapat perhatian dan pengamatan yang cermat. Residu ini dapat membahayakan manusia karena menimbulkan reaksi alergi, gangguan terhadap mikroflora pencernaan, resistensi mikroorganisme dan efek samping lainnya. Selain itu juga dapat menimbulkan kegagalan dalam pembuatan keju, mentega dan yoghurt (Egan *et al.*, 1981; Jones dan Seymour, 1988).

Penggunaan ampiclox untuk pengobatan mastitis pada sapi perah dapat menimbulkan residu obat dalam air susu selama beberapa hari. Kira-kira 50 persen dari dosis total ampiclox yang diberikan secara intramammae dapat dijumpai dalam air susu dari dua perahan pertama (Jepsen, 1962).

Menurut Sarwedhi (1990) analisis kuantitatif residu ampicilin dengan menggunakan metoda "Spektrofotometer" akan tetap bertahan sampai dengan hari keenam dalam sampel air susu setelah pengobatan terakhir. Pengobatan ini diberikan secara intramammae selama tiga hari dengan selang waktu 24 jam.

Menurut Booth dan McDonald (1982), berdasarkan ketetapan WHO memberikan batasan maksimal bagi residu derivat penisilin di dalam air susu yang dapat dikonsumsi sebesar 0.01 ppm.

Menurut Undang-Undang di beberapa negara yang dikutip oleh Poeloengan (1981) memberikan persyaratan bahwa sapi

yang telah diobati dengan antibiotika, air susu dapat dijual atau dikonsumsi setelah empat sampai dengan enam hari setelah pengobatan.

Kekhawatiran dalam penggunaan ampiclox yang bertujuan untuk melindungi sapi perah dari penyakit mastitis adalah timbulnya residu obat dalam air susu. Mengingat adanya kemungkinan-kemungkinan yang merugikan manusia, maka perlu pengawasan dan pengujian lebih lanjut tentang "waktu bebas" residu obat dalam air susu, berkaitan dengan efek samping yang ditimbulkannya.

Perumusan Masalah

Atas dasar latar belakang permasalahan tersebut di atas, maka dilakukan sigi di wilayah kerja KUD "Setia Kawan" Nongkojajar Pasuruan, Jawa Timur. Dalam sigi ini ingin diketahui apakah residu amplicox dalam air susu sapi pada kasus mastitis subklinis dapat dihitung secara kuantitatif berdasarkan selang waktu pemeriksaan, setelah pengobatan amplicox dosis terapi secara intramammae.

Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui "waktu bebas" residu ampiclox yang berada dalam air susu sapi pada kasus mastitis subklinis dapat dihitung secara kuantitatif berdasarkan selang waktu

pemeriksaan, setelah sekali pengobatan dengan ampiclox dosis terapi secara intramammae.

Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat, peternak dan pihak-pihak yang berkepentingan tentang "waktu bebas" residu ampiclox di dalam air susu sapi setelah pengobatan dengan ampiclox secara intramammae pada kasus mastitis subklinis di wilayah kerja KUD "Setia Kawan" Nongkojajar Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur.

Hipotesis Penelitian

Dalam penelitian ini dapat dikemukakan hipotesis bahwa selang waktu pemeriksaan setelah sekali pengobatan dengan ampiclox secara intramammae pada kasus mastitis subklinis berpengaruh terhadap kadar residu ampiclox di dalam air susu sapi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Anatomi Ambing (Kelenjar Susu)

Kelenjar susu adalah kelenjar di bawah kulit dan merupakan suatu kelenjar pelengkap sistem reproduksi, karena berhubungan erat dengan hormon dan fungsi-fungsi reproduksi. Kelenjar susu sapi, kerbau dan kuda terdiri atas empat kuartir, sedangkan kambing dan domba hanya terdiri dari dua kelenjar masing-masing sebuah di kanan dan kiri. Letak kelenjar susu pada setiap makhluk hidup berbeda-beda tergantung spesiesnya. Pada sapi, kerbau, kuda, kambing dan domba serta ikan paus ambing terletak di daerah selangkangan (inguinal) (Subronto, 1985).

Keempat kuartir ambing di bagian medial dipisahkan oleh suatu lekuk yang disebut lekuk longitudinal (*sulcus intermammaria*). Pada tempat lekukan ini terdapat jaringan ikat penggantung yang kuat, dinamakan *ligamentum suspensorium medialis*. Antara kuartir anterior dan posterior juga terdapat *ligamentum suspensorium transversarium*. Hal tersebut membuktikan bahwa keempat kuartir tidak terdapat hubungan secara langsung, yang secara klinis bersifat menguntungkan karena infeksi kelenjar air susu mungkin hanya terbatas pada satu kuartir saja (Blakely and Bade, 1985; Subronto, 1985).

Bagian kelenjar ambing terdiri dari alveoli (tempat pembentukan air susu), lobuli dan lobi. Tinggi rendahnya produksi air susu tergantung pada jumlah alveoli yang aktif dan tidak tergantung pada ukuran ambing. Air susu yang dihasilkan oleh alveoli akan ditimbun dalam sisterna yang terdiri dari sisterna glanduler (*sisterna laktiferus*) dan sisterna puting (*sisterna papillaris*). Di dalam sisterna puting, pada bagian atas terdapat lipatan mukosa yang disebut *roset Furstenburg* yang diduga mampu menghalangi keluarnya air susu dari sisterna. Otot sphincter pada saluran puting ini mempunyai peranan dalam mencegah mengalirnya air susu keluar. Pada ujung puting terdapat saluran pendek yang disebut saluran ujung puting (*duktus papillaris*) (Subronto, 1985).

Pada induk-induk muda saluran ujung puting merupakan penghalang (*barrier*) yang efektif terhadap masuknya kuman ke dalam sisterna (Subronto, 1985). Gambaran anatomi ambing dan alveolus penghasil air susu dapat dilihat pada lampiran 14.

Air Susu

Air susu merupakan hasil pemerahan sapi sehat melalui pemerahan kontinyu dan sekaligus, yang hasil perahannya dapat dikonsumsi, serta tidak dikurangi dan ditambah suatu komponen apapun (Soewedo, 1983).

Air susu merupakan salah satu komoditi pangan asal ternak dan merupakan bahan pangan yang mengandung zat-zat makanan yang dibutuhkan manusia karena bernilai gizi tinggi dan mempunyai komposisi yang serasi. Kandungan zat dan bahan makanan dalam air susu ini salah satunya sangat dipengaruhi oleh keadaan kelenjar ambing yang memproduksinya. Apabila kuartir kelenjar ambing sehat, maka air susu yang dihasilkan normal. Air susu yang dihasilkan oleh kelenjar ambing yang sakit, misalnya mastitis yang disebabkan oleh infeksi bakteri, maka dalam air susu dapat ditemukan sel somatik (sel radang dan sel parenkim kelenjar yang rusak) dan bakteri penyebab infeksi. Hal ini tentunya tidak baik apabila dikonsumsi oleh masyarakat.

Mastitis

Mastitis berasal dari bahasa Yunani "Mastos" yang berarti ambing dan "Itis" yang berarti peradangan (Wing, 1963 dan Schalm *et al.*, 1971).

Hungerford (1979) mengatakan bahwa mastitis adalah suatu penyakit dari keadaan atau gabungan beberapa faktor yang menyebabkan luka pada struktur dalam kelenjar ambing. Mirnawati (1985) mengatakan bahwa mastitis adalah suatu peradangan kelenjar ambing yang umumnya disebabkan oleh infeksi kuman-kuman ke dalam kelenjar air susu melalui lubang puting.

Kejadian mastitis secara garis besar dapat dibedakan menjadi mastitis klinis dan subklinis (Schalm *et al.*, 1971; Hungerford, 1979 dan Mirnawati, 1985).

Mastitis subklinis adalah kejadian mastitis yang tidak menunjukkan tanda-tanda umum mastitis (Schalm *et al.*, 1971). Mirnawati (1985) mengatakan bahwa mastitis subklinis adalah bentuk mastitis yang tidak menunjukkan perubahan baik pada ambing maupun air susunya, tanda-tanda yang paling jelas adalah terjadinya penurunan produksi air susu secara bertahap tetapi pasti dan dapat didiagnosa dengan penghitungan sel leukosit secara langsung maupun tidak langsung.

Kejadian mastitis subklinis 20 - 50 kali lebih sering bila dibanding mastitis klinis. Biasanya mastitis klinis merupakan kelanjutan daripada mastitis subklinis (Mirnawati, 1985).

Mastitis klinis adalah mastitis yang tanda-tandanya dapat dilihat atau diketahui oleh peternak atau pemerah. Tanda-tanda mastitis klinis adalah ambing membengkak, panas, sakit, kemerahan. Sedangkan air susu yang berasal dari ambing yang terkena mastitis klinis mengalami perubahan warna kemerahan, kehijauan, kuning kecoklatan, menggumpal, encer seperti air dan kadang-kadang berbau (Schalm *et al.*, 1971; Hungerford, 1979).

Pencegahan untuk timbulnya mastitis dapat dilakukan dengan pengujian mastitis dan program pengendalian, perawatan mesin perah, serta perhatian mengenai prosedur pemerahan oleh para peternak pemerah (Blakely and Bade, 1985). Menurut Subronto (1985) pencegahan mastitis terutama ditujukan kepada kebersihan kandang, kebersihan sapi serta pengobatan yang baik.

Penyebab Mastitis

Penyebab mastitis dapat dibedakan menjadi penyebab yang infeksius dan non infeksius. Penyebab yang infeksius antara lain bakteri, jamur, mycoplasma dan ragi. Sedangkan bakteri yang spesifik pada mastitis yang infeksius adalah *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus disgalactiae*, *Streptococcus uberis* dan *Staphylococcus aureus* (Schlam et al., 1971).

Penyebab mastitis yang bersifat non infeksius adalah genetik, makanan dan lingkungan. Faktor-faktor lain yang berpengaruh terhadap kejadian mastitis adalah faktor ambing, puting dan umur sapi (Blood and Radostits, 1989).

Diagnosa Mastitis

Metoda diagnosa mastitis yang cepat dan tepat merupakan salah satu tindakan penting untuk mencegah meluasnya penyakit, mengingat kejadiannya seringkali bersifat subklinis.

Banyak cara yang dapat digunakan untuk mendiagnosa mastitis pada ternak, terutama mastitis subklinis (Prawesthirini, 1978; Mirnawati, 1985).

Ada dua cara yang biasa digunakan untuk mendiagnosa mastitis subklinis yaitu (1). menghitung jumlah sel radang baik secara langsung maupun tidak langsung, (2). mendeteksi kuman penyebab mastitis. Menghitung jumlah sel radang secara langsung antara lain dengan menggunakan metoda BREED, Coulter Counter, TAS, Fossomatik dan lain-lain. Secara tidak langsung dengan menggunakan metoda California Mastitis Test (CMT), White Side Test (WST), Aulendorfer Mastitis Probe (AMP), Mastitis Detector (MD), dan lain-lain. Dengan menghitung jumlah sel radang dapat diketahui derajat gangguan pada ambing atau kelenjar air susu (Mirnawati, 1985).

Mendeteksi kuman penyebab mastitis dengan cara pemeriksaan bakteriologis yaitu isolasi dan identifikasi dari sampel air susu pada ambing sapi penderita mastitis. Pengambilan sampel air susu dilakukan seaseptis mungkin untuk mencegah adanya pencemaran dengan mikroba lain (Lennete *et al.*, 1980).

Blakely and Bade (1985) mengatakan bahwa mastitis subklinis harus diidentifikasi. Hal ini dapat dilakukan dengan metoda California Mastitis Test (CMT) yang perlu dikerjakan setidaknya sekali sebulan. Pengujian CMT ini sifatnya

sederhana, ekonomis dan mampu menemukan gejala mastitis dalam tahapan subklinis.

Menurut Schlam *et al.* (1971), California Mastitis Test (CMT) adalah suatu metoda yang digunakan untuk mendiagnosa mastitis subklinis dengan cepat, sederhana dan lebih mudah. Mempunyai spesifikasi untuk leukosit pada air susu. Jumlah total sel leukosit pada air susu digambarkan dengan tingkat presipitasi atau bentuk gel yang terjadi dari campuran air susu tersangka dengan reagen CMT.

Kelebihan atau keuntungan penggunaan CMT sebagai diagnosa mastitis subklinis di lapangan adalah sederhana, cepat, mudah, tidak mahal dan hasilnya dapat dipercaya (Mirnawati, 1985).

Pengaruh Mastitis Terhadap Komposisi Air Susu

Kerugian ekonomi akibat mastitis yang dialami oleh peternak terutama disebabkan oleh penurunan produksi air susu baik per kuatir maupun per individu, biaya perawatan dan pengobatan, air susu yang harus dibuang karena tidak memenuhi persyaratan serta kenaikan biaya penggantian sapi untuk kelangsungan produksi (Sarwedhi, 1990).

Pengaruh mastitis terhadap komposisi air susu dapat berupa penurunan kadar lemak, bahan kering tanpa lemak, kasein, laktosa, abu dan kenaikan kadar air, klorida dan

derajat keasaman (Prawesthirini, 1978). Perubahan fisis atas air susu meliputi warna, bau, rasa dan konsistensi. Warna yang biasanya putih kekuningan akan berubah menjadi putih atau agak kebiruan. Rasa air susu normal yang manis menjadi getir atau agak asin. Bau yang harum dari air susu normal bila dalam keadaan mastitis akan menjadi asam. Konsistensi yang biasanya cair dengan emulsi yang merata akan berubah menjadi pecah, lebih cair dan kadang disertai jonjot atau endapan fibrin serta gumpalan protein yang lain (Subronto, 1985).

Pengobatan Terhadap Mastitis

Pengobatan mastitis umumnya menggunakan preparat antibiotika, baik secara intramammae maupun secara intra muskular atau dalam kombinasi keduanya (Subronto, 1985).

Pada mastitis tahap awal (mastitis subklinis), pengobatan dapat dilakukan dengan menyuntikkan secara langsung ke dalam kanal puting. Hasil terhadap pengobatan dengan cara ini umumnya baik. Pengobatan pada sapi yang sedang kering lebih berhasil dibandingkan pengobatan pada sapi yang sedang laktasi (Subronto, 1985; Blakely and Bade, 1985).

Pada pencegahan maupun pengobatan mastitis dengan antibiotika, perlu diawali dengan melakukan uji sensitivitas kuman terhadap antibiotika yang akan digunakan. Hal ini

dianjurkan terutama dalam menghadapi kasus penyakit yang berulang (Anonimus, 1990).

Pengobatan mastitis selain menggunakan ampiclox dapat juga menggunakan antibiotika yang umum digunakan yaitu Penisilin - Streptomisin. Pilihan lain adalah Prokain Penisilin G untuk infeksi ambing dan Tetrasiklin yang merupakan antibiotika pilihan dan memiliki efek yang sama baik dengan penisilin (Anonimus, 1990).

Tinjauan Tentang Ampiclox (Ampisilin dan Kloksasilin)

Antibiotika pertama yang ditemukan adalah penisilin berdasarkan pengamatan Fleming pada tahun 1928 di London, selanjutnya satu dekade kemudian dikembangkan oleh Florey untuk penggunaan sistemik, dengan menggunakan biakan *Penicillium notatum*.

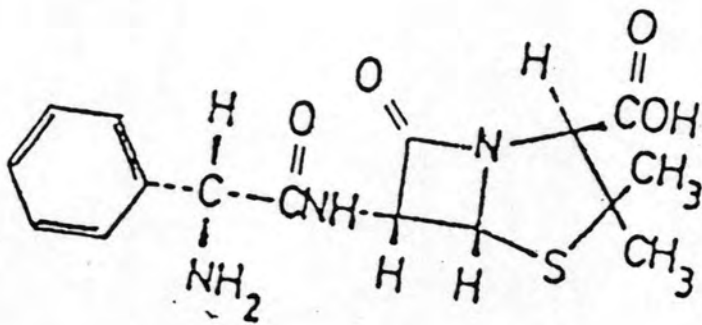
Penisilin yang digunakan untuk pengobatan terbagi dalam penisilin alam dan semi sintetik. Penisilin alam diekstraksi dari biakan *Penicillium chrysogenum*, sedangkan yang semi sintetik diperoleh dengan cara mengubah struktur kimia penisilin alam atau dengan cara sintesis dari inti penisilin yaitu asam 6-aminopenisilinat (Gan dan Istiantoro, 1987).

Ampiclox termasuk dalam penisilin semi sintetik, dimana ampisilin mempunyai spektrum antibakteri yang luas tetapi bersifat tidak tahan terhadap enzim penisilinase sehingga

tidak efektif untuk infeksi bakteri yang memproduksi penisilinase. Enzim penisilinase dihasilkan oleh beberapa mikroba, yang paling terkenal diantaranya adalah *Staphylococcus sp.* (Gan dan Istiantoro, 1987). Maka untuk mengatasi hal ini dalam sediaan ampisilin sering dikombinasikan dengan kloksasilin (Anonimus, 1972).

Ampisilin termasuk golongan Aminopenisilin, dimana ampisilin natrium berbentuk serbuk kristal dengan warna putih, tidak berbau dan higroskopis, larut baik dalam air maupun aseton, sedikit larut dalam kloroform dan tidak larut dalam eter, paraffin liquid dan minyak lemak, serta relatif stabil dalam suasana asam (Anonimus, 1972).

Gambar struktur kimia ampisilin dapat dilihat sebagai berikut :

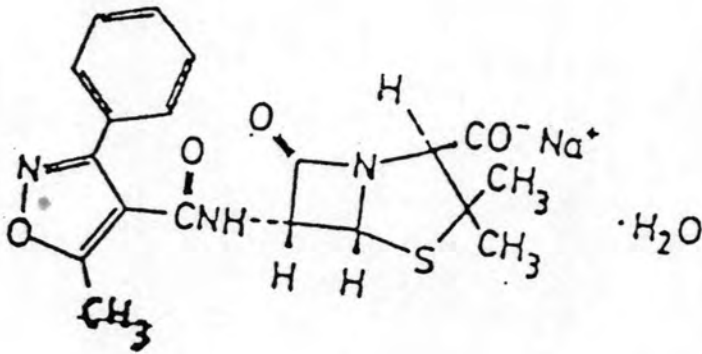


Gambar 1. Struktur kimia ampisilin (Wattimena dkk., 1991).

Menurut Sudarwanto (1990), ampicilin natrium akan berada dalam air susu sampai dengan hari keenam setelah pengobatan terakhir. Pengobatan ini diberikan secara intramammæ selama tiga hari dengan selang waktu 24 jam.

Kloksasilin merupakan salah satu golongan penisilin Isoksazolil yang tahan terhadap pengaruh penisilinase (Gand dan Istiantoro, 1987). Menurut Anonimus (1972), sifat dari kloksasilin sodium adalah berupa bubuk atau kristal putih, higroskopis, larut baik dalam air dan sedikit larut dalam alkohol dan kloroform.

Gambar struktur kimia kloksasilin dapat dilihat sebagai berikut :



Gambar 2. Struktur kimia kloksasilin (Wattimena dkk., 1991)

Distribusi ampliclox tersebar luas dalam jaringan dan cairan tubuh. Konsentrasinya dalam darah, dapat mengalami difusi ke hati, paru-paru, ginjal dan juga mengalami difusi ke jaringan tubuh yang lain yaitu cairan ekstraseluler,

cairan serebrospinalis, foetus, air susu, cairan bola mata, cairan persendian dan cairan intraseluler (Huber, 1977; Brander *et al.*, 1982).

Mercer *et al.* (1974) yang dikutip oleh Huber (1977) mengatakan bahwa ampiclox yang disuntikkan dalam kuartir terinfeksi (mastitis) lebih lama hilang daripada dalam kuartir sehat. Ekskresi ampiclox melalui kelenjar ambing ditemukan dalam jumlah besar. Ampiclox akan berada dalam air susu dan jaringan selama 24 jam dalam bentuk cair, 48 jam dalam bentuk emulsi minyak - air dan 72 jam dalam bentuk vehikulum minyak - mineral.

Pengobatan mastitis pada sapi yang sedang laktasi untuk ampisilin natrium dosis yang diberikan adalah 75 mg dengan dikombinasikan 200 mg kloksasilin natrium tiap kuartir, dilakukan tiga hari pengobatan secara berturut-turut. Pada masa kering digunakan dosis tunggal ampisilin natrium 250 mg tiap kuartir (Anonimus, 1985 a ; Blood and Radostits, 1989).

Khasiat dan Efek Samping Ampiclox

Menurut Jawetz *et al.* (1980), sifat dari antibiotika pada dasarnya ada dua macam yaitu bakteriostatik dan bakterisid. Sifat bakteriostatik adalah sifat antibiotika yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme, dan bakterisid adalah sifat antibiotika yang membunuh mikroorganisme secara

in vitro. Kedua sifat tersebut dapat dibedakan dengan uji sensitivitas.

Berdasarkan mekanisme kerjanya ampiclox termasuk dalam kelompok antibiotika yang menghambat sintesis dinding sel kuman karena tanpa dinding sel mikroba tidak dapat bertahan terhadap pengaruh luar (Wattimena dkk., 1991).

Menurut Gan dan Setiabudy (1987) dinding sel bakteri secara kimia adalah polipeptidoglikan, yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Adanya penghambatan dinding sel tersebut disebabkan tekanan osmotik di dalam sel kuman lebih tinggi daripada di luar sel, sehingga terjadi kerusakan atau lisis dari dinding sel kuman, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka.

Ampisilin bersifat aktif terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Ampisilin biasanya digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh *Streptococci sp.*, *Salmonella sp.*, *E. coli*, *Staphylococci sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Clostridium sp.*, *Fusiformis sp.*, *Proteus sp.*, *Brucella sp.*, *Klebsiella sp.* dan *Pasteurella sp.* (Huber, 1977; Brander et al., 1982).

Kloksasilin mempunyai spektrum dan cara kerja yang efektif terhadap *Streptococcus haemolyticus*, *Pneumococcus sp.* dan *Staphylococcus sp.* (Wattimena dkk., 1991). Menurut Gan dan Istiantoro (1987), spektrum kerja dari golongan

penisilin Isoksazolil pada umumnya lebih sempit daripada penisilin G karena tidak efektif terhadap mikroba gram negatif. Manfaatnya hanyalah sebagai pengganti penisilin G pada infeksi *Staphylococcus sp.* penghasil penisilinase.

Beberapa ahli menyatakan pendapat yang berbeda mengenai efek samping dari pemberian obat derivat penisilin. Menurut Huber (1977) kemungkinan toksisitas dari penisilin dan derivatnya adalah kecil sekali, biasanya hanya menyebabkan reaksi alergi.

Menurut Jawetz *et al.* (1980), efek samping yang paling nyata dari golongan penisilin adalah reaksi alergi yang dapat menyebabkan terjadinya anafilaksis.

Residu Ampiclox dan Efeknya Terhadap Konsumen

Adanya antibiotika, khususnya ampiclox dalam air susu biasanya sebagai akibat pengobatan secara intramamiae pada sapi-sapi yang menderita mastitis (Egan *et al.*, 1981; Sudarwanto, 1990).

Ampiclox merupakan salah satu kombinasi antibiotika yang paling sering menimbulkan reaksi alergi pada manusia maupun hewan. Banyak kasus alergi pada orang setelah minum air susu. Setelah diperiksa ternyata air susu tersebut mengandung residu ampiclox (Kucers, 1972; Egan *et al.*, 1981).

Bahaya lain dari residu ampiclox dalam air susu yaitu dapat menimbulkan bakteri yang resisten sehingga akan menyulitkan pengobatan pada manusia atau hewan yang terinfeksi mikroorganisme tersebut (Kucers, 1972).

Kerugian lain yang ditimbulkan residu ampiclox dalam air susu yaitu dapat menimbulkan kegagalan dalam pembuatan keju, mentega dan yoghurt. Hal ini disebabkan karena residu ampiclox dalam air susu menghambat produksi asam laktat dari bakteri pembentuk asam susu yang ditambahkan ke dalam air susu (Egan *et al.*, 1981; Subronto, 1985).

Menurut Pramono (1975), residu ampiclox pada ternak bergantung pada macam dan dosis yang diberikan, cara aplikasi, lama pemberian serta cara penyebarannya dalam tubuh, jarak waktu antara pemberian dan waktu pemotongan, kecepatan dan derajat penguraian serta ekskresinya.

Adanya residu ampiclox dalam air susu dapat dideteksi dan diidentifikasi serta diukur kadarnya. Hal ini dapat dilakukan melalui beberapa cara yang berprinsip pada dasar-dasar pengukuran kekuatan (assay) terhadap ampiclox, sedang pengukurannya bergantung kepada metoda yang digunakan (Jones *et al.*, 1977; Villim *et al.*, 1979).

BAB III

MATERI DAN METODA PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian mengenai analisis kuantitatif residu ampiclox dalam air susu sapi pada kasus mastitis subklinis dilakukan di wilayah kerja KUD "Setia Kawan" Nongkojajar Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur dan di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Waktu penelitian dilaksanakan mulai tanggal 17 Nopember 1992 sampai dengan 17 Januari 1993.

Materi Penelitian

Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah air susu sapi hasil pemerahan siang hari diambil secara aseptis dari ambing sapi yang menderita mastitis subklinis (positif tiga) dengan menggunakan metoda CMT (California Mastitis Test) setelah sekali pengobatan dengan ampiclox dosis terapi (lima mililiter) secara intramamiae pada 10 ekor sapi. Sebagai Kontrol juga diambil air susu sapi dari ambing sehat pada sapi yang sama di wilayah kerja KUD "Setia Kawan" Nongkojajar Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur.

Mikroba uji

Untuk mengetahui adanya residu ampiclox dalam air susu digunakan mikroba yang peka yaitu *Staphylococcus aureus* hasil isolasi dari sampel mastitis subklinis (Wattimena dkk., 1991).

Media

Media yang digunakan untuk mengisolasi dan mengetahui kemampuan menghemolisa darah *Staphylococcus aureus* adalah media Blood Agar, sedangkan metoda difusi test yang digunakan untuk mengetahui sensitivitasnya adalah media Mueller Hinton Agar (buatan *Difco Laboratories, U.S.A.*).

Kertas disk

Kertas disk yang digunakan dalam penelitian ini adalah kertas disk kosong (kertas disk yang tidak mengandung antibiotika atau bahan obat lainnya), dan berdiameter enam milimeter buatan *Whatman International Ltd., England*.

Ampiclox

Pembuatan kurva baku dengan menggunakan preparat ampiclox satu dosis (sebanyak lima mililiter), mengandung kombinasi 75 mg ampisilin sodium dan 200 mg kloksasilin sodium (buatan *Beecham Ltd., England*). Pengenceran preparat

ampiclox satu dosis dilakukan dengan metoda pengenceran secara berseri yang dapat dilihat pada lampiran 2.

Bahan-bahan Lainnya

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alkohol, kapas, H_2O_2 3% (digunakan untuk uji katalase), gentian violet, saffranin, lugol, darah kelinci (untuk uji koagulase), dan reagen CMT (California Mastitis Test). Selain itu digunakan aquabidest steril sebagai pelarut preparat ampiclox.

Alat-alat

Alat-alat yang digunakan ini adalah paddle CMT, botol steril, termos es, rak beserta tabung reaksi, tabung sentrifuse, alat sentrifuse, pipet satu mililiter steril, pembakar bunsen, spatula bengkok, ose, gelas obyek, cawan petri, inkubator, mikroskop, vorteks, pinset steril, pipet tuberkulin steril dan mistar.

Metoda Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara in vitro dengan menggunakan uji Sensitivitas metoda difusi (Jang *et al.*, 1978).

Persiapan sampel

Sampel

Air susu dari ambung sapi yang menderita mastitis subklinis (positif tiga) setelah sekali pengobatan dengan ampiclox dosis terapi secara intramammae diambil yaitu pada hari pertama, kedua, ketiga, keempat, kelima dan keenam setelah pengobatan. Sebagai Kontrol juga diambil air susu hasil pemerahan dari ambung sehat pada sapi yang sama.

Mastitis subklinis (positif tiga) ini diperoleh dari sapi-sapi perah yang air susunya ditolak oleh KUD "Setia Kawan" Nongkojajar. Pemeriksaan mastitis subklinis dilakukan dengan metode CMT (California Mastitis Test). Cara kerja dan penilaian atau interpretasi uji CMT ini dapat dilihat pada lampiran 1 (Schalm *et al.*, 1971).

Sampel air susu tersebut diambil secara aseptis, yaitu dengan cara mencuci ambung dengan air bersih untuk membebaskan ambung dari kotoran-kotoran yang menempel pada kulit ambung. Setelah itu dikeringkan dengan kain lap bersih yang telah dicelup dengan alkohol 70%. Keringkan lagi dengan kain lap bersih, kemudian seka ujung puting susu dengan vaselin untuk mempermudah pemerahan. Pancaran air susu yang pertama dibuang, kemudian dimasukkan ke dalam botol steril yang tertutup. Ambung dibersihkan lagi dengan kain lap bersih yang telah dicelup dengan alkohol 70%. Selama dalam

perjalanan menuju laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Unair, spesimen dalam botol dimasukkan ke dalam termos es untuk menghambat pertumbuhan kuman (Poeloengan dkk., 1984).

Isolasi dan identifikasi *Staphylococcus aureus*

Sampel air susu mastitis subklinis (positip tiga) disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit. Lemak di atas cairan air susu dipisahkan, cairan susu diambil dengan ose steril dan dipupuk secara "streak" pada media Blood Agar. Diinkubasi pada suhu 37^o C selama 24 jam (Kingscote, 1989; Kusdarwati dkk., 1991).

Koloni yang tumbuh yang dicurigai *Staphylococcus sp* diidentifikasi secara mikroskopis dengan pewarnaan gram positip dan tes-tes biokimia yang spesifik antara lain hemolisis, tes katalase dan koagulase (lampiran 5).

Pembuatan suspensi kuman

Suspensi kuman yang akan diperiksa dibuat dengan memasukkan lima koloni kuman ke dalam empat mililiter media cair Brain Heart Infusion (BHI broth), kemudian diaduk sampai merata dengan menggunakan vorteks. Selanjutnya dieramkan pada suhu 37^o C selama dua sampai lima jam (Bonang dan Koeswardono, 1982).

Pengisian kertas disk

Sampel air susu dari ambung yang diobati dan kontrol selama enam hari pemeriksaan disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit untuk memisahkan lemak dengan cairan susu. Kertas disk kosong dimasukkan ke dalam cairan susu yang telah diambil lemaknya selama beberapa menit sampai jenuh, selanjutnya dikeringkan dalam inkubator dengan suhu 37° C (Kingscote, 1989; Kusdarwati dkk., 1991).

Pelaksanaan Penelitian

Suspensi kuman *Staphylococcus aureus* yang telah disiapkan diambil sebanyak 0.2 ml dan dituang pada media Mueller Hinton Agar (MHA), kemudian diratakan permukaannya dengan spatula bengkok steril. Suspensi kuman pada permukaan media MHA didiamkan selama 10 - 15 menit agar kuman menempel pada permukaan media.

Kertas disk yang diduga telah berisi ampiclox dan kontrol diletakkan di atas media dengan bantuan pinset steril dan sedikit ditekan agar obat meresap ke dalam Agar dengan baik. Setiap cawan petri dapat memuat beberapa kertas disk dengan jarak yang diatur sedemikian rupa sehingga hasilnya tidak menumpuk. Media yang telah berisi kuman dan kertas disk diinkubasi pada suhu 37° C selama 18 - 24 jam (Kingscote, 1989; Kusdarwati dkk., 1991).

Penentuan kurva baku ampiclox didasarkan dengan cara melarutkan preparat ampiclox satu dosis ke dalam pelarut aquabidest steril (Wattimena dkk., 1991). Selanjutnya dibuat seri pengenceran dari larutan ampiclox satu dosis, dan masing-masing konsentrasi larutan diuji dengan metode difusi test (lampiran 2). Hasil yang didapatkan dari kadar ampiclox dengan diameter daerah hambatan dibuat grafik, sehingga didapatkan kurva baku yang akan dipakai untuk menentukan kadar ampiclox dari sampel air susu tersebut.

Rancangan Penelitian dan Analisis data

Pengujian kuva baku ampiclox dilakukan dengan menggunakan metoda Analisis Regresi (Santoso dan Mustadjab, 1992).

Analisa data dilakukan dengan menggunakan Sidik Ragam dengan pola RAL (Rancangan Acak Lengkap), dengan tujuan untuk mengetahui perbedaan kadar residu ampiclox dengan selang waktu pemeriksaan setelah pengobatan. Setiap macam perlakuan (hari pemeriksaan) dilakukan ulangan sebanyak 10 kali.

Apabila pengujian dengan Sidik Ragam menunjukkan perbedaan yang bermakna, maka dilanjutkan dengan Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui perbedaan nilai rata-rata dari masing-masing lama perlakuan (Kusriningrum, 1989).

Pengamatan Hasil Penelitian

Hasil penelitian yang diamati adalah terbentuknya daerah jernih di sekitar kertas disk, yang merupakan daerah hambatan pertumbuhan kuman. Besarnya diameter daerah hambatan pertumbuhan ini diukur dengan mistar dalam satuan milimeter.

Penetapan kadar residu ampiclox dari sampel air susu didasarkan atas kurva baku ampiclox, dimana diameter hambatan dengan kadar ampiclox tertentu yang mendekati diameter hambatan hasil pemeriksaan residu, dianggap sebagai hasil pemeriksaan kadar residu ampiclox sehingga didapatkan hubungan antara diameter hambatan dengan kadar residu ampiclox (lampiran 2).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Residu Ampiclox

Pada ambing sehat (kontrol) tidak terdapat adanya diameter hambatan disekitar kertas disk selama enam hari pemeriksaan (lampiran 13). Hal ini berarti bahwa pada ambing sehat (kontrol) tidak terdapat kadar residu ampiclox dalam air susu untuk masing-masing hari pemeriksaan.

Tabel 1. merupakan hasil pemeriksaan rata-rata kadar residu ampiclox dalam air susu pada kasus mastitis subklinis setelah sekali pengobatan secara intramamiae berdasarkan kurva baku ampiclox. Prosedur tahapan pengenceran preparat ampiclox satu dosis dan analisis statistik kurva baku ampiclox dapat dilihat pada lampiran 2. Pada pemeriksaan hari pertama, kedua, ketiga, keempat dan kelima ditemukan adanya residu ampiclox dalam air susu, sedangkan pada pemeriksaan hari ke enam tidak ditemukan lagi adanya residu ampiclox. Kadar residu ampiclox dalam air susu untuk pemeriksaan hari pertama berkisar $1.3824^{-02} \pm 5.7117^{-03}$ dosis, pemeriksaan hari kedua berkisar $1.8651^{-02} \pm 6.1425^{-03}$ dosis, pemeriksaan hari ketiga berkisar $5.7673^{-02} \pm 4.4247^{-02}$ dosis dan pemeriksaan hari keempat berkisar $8.9336^{-03} \pm 3.0739^{-03}$ dosis, serta pemeriksaan hari kelima berkisar $9.9278^{-04} \pm 3.3049^{-04}$ dosis. Pada pemeriksaan hari keenam tidak ditemukan adanya

diameter hambatan disekitar kertas disk (lampiran 13). Hal ini berarti pada pemeriksaan hari keenam sudah tidak didapatkan kadar residu ampiclox dalam air susu.

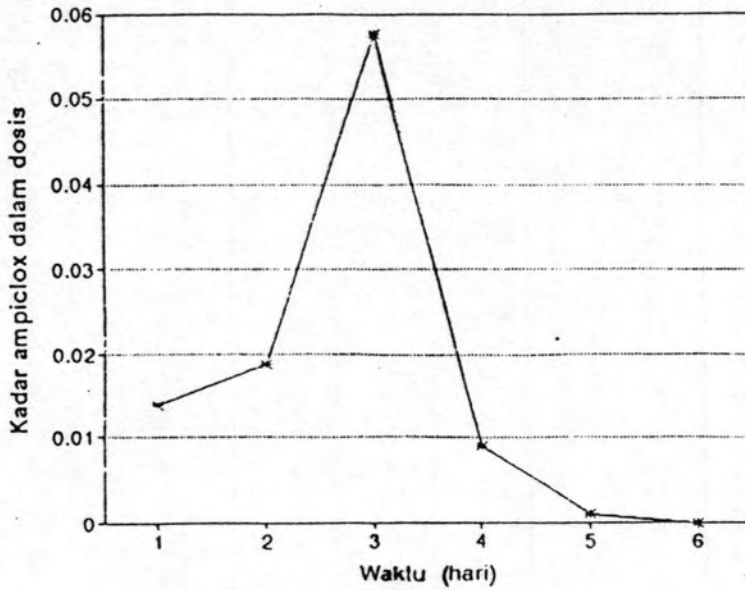
Tabel 1. Hasil Rataan Kadar Residu Ampiclox Dalam Air Susu Pada Kasus Mastitis Subklinis Setelah Sekali Pengobatan Secara Intramammae Berdasarkan Kurva Baku Ampiclox

Pemeriksaan (hari)	Zona Hambatan (dalam mm)	Kadar Residu Ampiclox (dalam dosis)
Pertama	21.662 ± 1.8651	1.3824 ^{-02b} ± 5.7117 ⁻⁰³
Kedua	23.258 ± 1.7090	1.8651 ^{-02b} ± 6.1425 ⁻⁰³
Ketiga	26.327 ± 1.3311	5.7673 ^{-02a} ± 4.4247 ⁻⁰²
Keempat	19.903 ± 1.5624	8.9336 ^{-03b} ± 3.0739 ⁻⁰³
Kelima	11.926 ± 1.1851	9.9278 ^{-04b} ± 3.3049 ⁻⁰⁴
Keenam	—	—

Keterangan : 1 dosis : mengandung 75 mg ampisilin sodium dan 200 mg kloksasilin sodium.
 — : tidak terdapat residu ampiclox.
 a,b : rata-rata pada superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0.05$)

Berdasarkan tabel 1 terlihat bahwa kadar residu ampiclox dalam air susu meningkat pada hari ketiga, kemudian menurun sampai dengan hari kelima serta tidak terdapat residu ampiclox lagi pada pemeriksaan hari keenam.

Hasil pengujian secara analisis statistik didapatkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0.01$) untuk masing-masing hari pemeriksaan (lihat lampiran 4). Hal ini berarti bahwa selang waktu pemeriksaan setelah sekali pengobatan dengan ampiclox secara intramammae berpengaruh terhadap kadar



Gambar 3. Kurva Rataan Kadar Residu Ampiclox Dalam Air Susu Setelah Sekali Pengobatan Secara Intramammae

residu ampiclox dalam air susu. Hasil Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) menunjukkan bahwa kadar residu ampiclox tertinggi diperoleh pada pemeriksaan hari ketiga yang berbeda nyata dengan pemeriksaan hari pertama, kedua, keempat dan kelima.

BAB V

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pemeriksaan mikrobiologis Uji Sensitivitas metoda difusi dengan kuman uji *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa pada ambung sehat (kontrol) tidak terdapat adanya diameter hambatan di sekitar kertas disk selama enam hari pemeriksaan (lampiran 13). Hal ini berarti pada ambung sehat (kontrol) tidak terdapat kadar residu ampiclox dalam air susu, karena antara keempat kuartir pada ambung sapi perah tidak terdapat hubungan secara langsung karena adanya jaringan ikat pemisah yang tidak nyata antara kuartir anterior dan posterior, yaitu "*ligamentum suspensorium transversarium*" dan jaringan ikat pemisah antara kuartir kanan dan kiri, yaitu "*ligamentum suspensorium medialis*" (Subronto, 1985).

Berdasarkan hasil kurva rata-rata kadar residu ampiclox dalam air susu setelah sekali pengobatan secara intramamariae (lihat gambar 3) yang diambil pada pemerahan siang hari, menunjukkan nilai rata-rata yang bervariasi untuk masing-masing hari pemeriksaan. Kadar residu ampiclox dalam air susu pada hari ketiga meningkat, kemudian menurun sampai dengan hari kelima dan tidak terdapat residu ampiclox lagi pada hari keenam.

Hal ini disebabkan pengobatan secara intramammae adalah cara pengobatan untuk efek lokal. Ampiclox yang diinjeksikan secara intramammae ini akan masuk melalui duktus papilaris. Ampiclox akan menyebar keseluruh jaringan, antara lain melalui sisterna puting, sisterna kelenjar, duktus laktiferus yang kemudian berakhir di alveolus (Subronto, 1985).

Sebagaimana kita ketahui bahwa mekanisme kerja dari ampiclox adalah menghambat sintesis dinding sel kuman. Adanya penghambatan disebabkan oleh tekanan osmotik di dalam sel lebih tinggi daripada di luar sel, sehingga terjadi kerusakan atau lisis dari dinding sel kuman, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka (Gan dan Setiabudy, 1987).

Hal ini tidak menutup kemungkinan bahwa ampiclox yang terdapat dalam jaringan alveolus dan sel pendukungnya, pada prinsipnya juga sama dengan mekanisme kerja tersebut. Pada saat sel alveoli mengalami lisis untuk mensekresi air susu, maka ampiclox akan ikut terlepas bersama keluarnya air susu yang diperah. Adanya kadar residu ampiclox masih dapat terdeteksi sampai hari kelima, disebabkan ikatan ampiclox dengan protein dan jaringan lemak alveoli tidak terlepas sekaligus. Ampiclox yang tertinggal masih cukup banyak, terbukti bahwa kadar residu ampiclox untuk masing-masing hari pemeriksaan besarnya bervariasi.

Di dalam alveoli adanya ikatan protein plasma ini memungkinkan pada pemerahan hari pertama, menyebabkan ampiclox yang berada di sisterna kelenjar ambing akan ikut keluar bersamaan dengan air susu. Hal ini menyebabkan konsentrasi ampiclox di dalam sisterna rendah, sedangkan konsentrasi di dalam alveoli tinggi. Konsentrasi ampiclox dari alveoli akan menuju ke sisterna, yang akhirnya ikut bersamaan dengan keluarnya air susu pada pemerahan berikutnya. Siklus ini akan terulang terus menerus sampai kadar ampiclox di dalam kelenjar air susu habis.

Hasil penelitian ini dapat disebabkan oleh adanya ikatan obat dengan protein plasma dan tingkat kejenuhan kelenjar ambing terhadap obat. Ampiclox yang diberikan secara intramammae akan lebih cepat berada di kelenjar ambing.

Berdasarkan kurva rata-rata kadar residu ampiclox dalam air susu (lihat gambar 3) juga menunjukkan peningkatan pada hari ketiga setelah pengobatan. Hal ini mungkin disebabkan adanya akumulasi ampiclox dalam jaringan kelenjar ambing dan tertimbun selama kurang lebih tiga hari, yang kemudian akan mengalami penurunan sampai hari kelima dan tidak lagi didapatkan residu ampiclox pada hari keenam.

Berdasarkan kenyataan di lapangan, kadar residu ampiclox meningkat pada hari ketiga setelah pengobatan dapat disebabkan oleh karena para peternak tidak pemerah air susu

tersebut sebagaimana mestinya, yaitu waktu ambing diobati hanya diperah dua kali sehari. Menurut anjuran dokter hewan setempat, ambing setelah diobati tidak boleh diperah selama sehari agar obat tersebut bekerja dengan baik dan setelah itu pada hari selanjutnya diperah minimal enam kali sehari agar residu obat tidak terlalu lama berada dalam air susu.

Kemungkinan lain, ampiclox diabsorpsi oleh alveoli kelenjar ambing. Ampiclox ini tidak terionisasi sehingga lebih lama tersimpan dalam kelenjar ambing, namun setelah ampiclox mengalami metabolisme akan segera diekskresikan.

Menurut Pramono (1975), residu antibiotika pada ternak bergantung pada macam dan dosis yang diberikan, cara aplikasi, lama pemberian serta cara penyebarannya dalam tubuh, kecepatan dan derajat penguraiannya serta ekskresinya.

Menurut Jepsen (1962), periode lamanya macam-macam antibiotika di dalam tubuh berbeda-beda. Penisilin dengan pelarut aquadest jika diberikan secara *intramammariae* akan diekskresikan dalam waktu dua hari, sedangkan jika diberikan secara intramuskular akan membutuhkan waktu satu hari. ✓

Penelitian ini dilakukan pada masa laktasi, sedangkan menurut Jones *et al.* (1977) sapi perah dengan produksi rendah akan membutuhkan waktu pengosongan residu antibiotika dalam air susu yang lebih lama. Pendapat ini digunakan untuk membandingkan masa laktasi dengan masa kering.

Menurut Booth dan McDonald (1982), berdasarkan ketetapan WHO memberikan batasan maksimal bagi residu derivat penisilin dalam air susu yang dapat dikonsumsi adalah sebesar 0.01 ppm. Bila dilihat dari hasil penelitian ini, kadar residu ampiclox pada hari kelima setelah pengobatan masih menunjukkan kadar residu yang melebihi batasan maksimal yang dapat dikonsumsi, yaitu 9.9278^{-04} dosis (273.0145 μg). Pada hari keenam setelah pengobatan tidak terdapat residu ampiclox dalam air susu, sehingga dalam hal ini dapat berarti bahwa air susu dapat dikonsumsi pada hari keenam setelah pengobatan.

Menurut Undang-Undang di beberapa negara yang dikutip oleh Poeloengan (1981) memberikan persyaratan bahwa sapi yang telah diobati dengan antibiotika, air susu dapat dijual atau dikonsumsi setelah empat sampai enam hari setelah pengobatan.

Berdasarkan hasil analisis statistik menunjukkan selang waktu pemeriksaan memberikan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0.01$) terhadap kadar residu ampiclox dalam air susu pada ambing yang diobati secara intramamiae (lihat lampiran 4). Hal ini berarti bahwa residu ampiclox dalam air susu pada ambing yang diobati secara intramamiae dipengaruhi oleh selang waktu pemeriksaan setelah pengobatan.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik suatu kesimpulan bahwa pemeriksaan residu ampiclox pada ambing sehat (kontrol) dan ambing yang diobati secara intramammae dengan Uji Sensitivitas metoda difusi secara in vitro :

1. Kadar residu ampiclox masih terdapat pada air susu selama lima hari dan baru dapat dikonsumsi pada hari keenam setelah pengobatan berdasarkan batasan maksimal yang telah ditetapkan oleh WHO.
2. Kadar residu ampiclox tertinggi didapatkan tiga hari setelah pengobatan dan kemudian menurun sampai dengan hari kelima, serta tidak terdapat kadar residu ampiclox lagi pada hari keenam.
3. Tidak terdapat kadar residu ampiclox pada ambing sehat dari sapi yang sama.

Saran

Berdasarkan penelitian tersebut dapat disarankan hal-hal sebagai berikut :

1. Air susu sapi perah pada kasus mastitis subklinis yang mendapat pengobatan antibiotika khususnya

- ampiclox, hendaknya tidak dikonsumsi tiga sampai dengan lima hari setelah pengobatan.
2. Berdasarkan kenyataan di lapangan apabila menggunakan ampiclox untuk pengobatan mastitis maka dosis harus tepat dan waktu pengobatan yang cukup untuk menghindari resiko yang dapat ditimbulkan oleh ampiclox tersebut.
 3. Penelitian lanjutan untuk mencari metoda lain dalam peneraan kadar residu ampiclox dalam air susu sebagai pembanding dari hasil penelitian ini.

R I N G K A S A N

SRI INDRARTI. Analisis kuantitatif residu ampiclox dalam air susu sapi pada kasus mastitis subklinis di wilayah kerja KUD "Setia Kawan". Penelitian ini dilakukan di bawah bimbingan Bapak Dr. Ismudiono, Drh., M.S. sebagai dosen pembimbing pertama dan Ibu Soetji Prawesthirini, Drh., S.U. sebagai dosen pembimbing kedua.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya mulai tanggal 17 Nopember 1992 sampai dengan 17 Januari 1993.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui "waktu bebas" residu ampiclox yang berada dalam air susu dapat dihitung secara kuantitatif berdasarkan selang waktu pemeriksaan, setelah sekali pengobatan dengan ampiclox secara intramammae.

Metoda yang digunakan dalam penelitian ini adalah pemeriksaan mikrobiologis dengan menggunakan Uji Sensitivitas metoda difusi secara in vitro. Mikroba uji yang digunakan untuk mengetahui ada tidaknya residu ampiclox dalam air susu pada ambing yang diobati dengan ambing sehat (kontrol) adalah *Staphylococcus aureus* dengan berdasarkan ada tidaknya diameter hambatan yang ditimbulkan. Penetapan kadar residu ampiclox didasarkan atas kurva baku ampiclox. Diameter hambatan dengan kadar ampiclox tertentu yang mendekati diameter

hambatan hasil pemeriksaan residu, dianggap sebagai hasil pemeriksaan kadar residu ampiclox, sehingga didapatkan hubungan yang menyatakan antara diameter hambatan dengan kadar residu ampiclox.

Hasil penelitian adalah pada ambing sehat (kontrol) tidak terdapat residu ampiclox dalam air susu untuk masing-masing hari pemeriksaan. Hal ini membuktikan bahwa antara keempat kuartir ambing tidak terdapat hubungan secara langsung, karena adanya suatu jaringan ikat penggantung "*ligamentum suspensorium medialis* dan *transversarium*" pada ambing. Kadar residu ampiclox dalam air susu pada kasus mastitis subklinis setelah sekali pengobatan secara intramammae menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0.01$) untuk masing-masing hari pemeriksaan. Hal ini berarti bahwa kadar residu ampiclox dipengaruhi oleh selang waktu pemeriksaan setelah pengobatan.

Dengan melihat hasil penelitian ini, masih diperlukan penelitian lanjutan untuk mencari metoda lain dalam peneraan kadar residu ampiclox dalam air susu sebagai pembanding dari hasil penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- ✓ Anonimus, 1972. Farmakope Indonesia. Edisi Ketiga. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 90 - 92.
- Anonimus, 1985 a. British pharmacopeia (Veterinary). Published on The Recommendation of The Medicines Commission pursuant to The Medicines Act 1968. London Her Majesty Stationery Office. 99 - 100.
- ✓ Anonimus, 1985 b. Penyakit Mastitis Merupakan Masalah yang Serius. Swadaya Peternakan Indonesia. No. 6. Juni - Juli 1985. 21 - 22.
- ✓ Anonimus, 1987. Pengobatan Mastitis Pada Sapi Perah. Bulletin FKH UGM. Vol. VII; No. 2 Res. 1987. 24.
- ✓ Anonimus, 1990. Penggunaan Antibiotika Di Lapangan. Poultry Indonesia. Tahun X/121/Januari. 21 - 22.
- ✓ Blakely, J. and D.H. Bade. The Science of Animals Husbandry 1985. Diterjemahkan oleh Srigandono, B. 1991. Ilmu Peternakan Edisi Keempat. Fakultas Peternakan Undip. Gajah Mada Universitas Press. 325 - 327.
- ✓ Blood, D.C. and O.M. Radostits. 1989. Veterinary Medicine: A Textbook of The Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horse. 7th. Ed. The University Printing House, Oxford 501 - 513.
- Bonang, G. dan E.S. Koeswardono. 1982. Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Katolik Indonesia Atmaja. Penerbit PT Gramedia Jakarta. 71 - 73.
- ✓ Booth, N.H. and L.E. McDonald. 1982. Drug and Chemical Residues in The Edible Tissues of Animals. In : Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 5th. Ed. The Iowa State University Press. Ames, Iowa. 1087 - 1088.
- ✓ Brander, G.C., D.H. Pugh, and R.J. Bywater. 1982. Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics. 4th. Ed. By Lliere, Tindall, London. 369 - 386.
- ✓ Egan, H., R.S. Kirk and R. Sawyer. 1981. Pearsons Chemical Analysis of Foods. 8th. Ed. Churchill Livingstone Edinburgh London, Melbourne and New York. 451 - 452.

- Gan, V.H.S. dan Y.H. Istiantoro. 1987. Penisilin, Sefalosporin dan Antibiotika Betalaktam Lainnya. Farmakologi dan Terapi. Edisi Ketiga. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia, Jakarta. 563 - 579.
- Gan, V.H.S. dan R. Setiabudy. 1987. Antimikroba. Farmakologi dan Terapi. Edisi Ketiga. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia, Jakarta. 515 - 526.
- Huber, W.G. 1977. Penicillinus. In : L.M. Jdins., N.H. Booth., and L.E. McDonald (Ed). Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 4th. Ed. Oxford and IBH. Publishing Co. New Delhi. 912 -928.
- ✓ Hungerford, T.G. 1979. Diseases of Livestock. 7th. Ed. Angus and Robertson, Sydney, London, Melbourne, Singapore. 235 - 243.
- ✓ Jang, S.S., E.L. Biberstein and D.C. Hirsh. 1978. Edition Revised A Diagnostic Manual of Veterinary Clinical Bacteriology and Mykology. 46 - 47, 69 - 72.
- Jawetz, E., J.L. Melnick and E.A. Adelberg. 1980. Review of Medical Microbiology. 14th. Ed. Diterjemahkan oleh Bonang, G. 1982. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan. EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta. 149 - 171.
- Jepsen, A, 1962. Resdiues of Desinfectans and Antibiotics in Milk. World Health Organization Monograph Series. No. 48. 449 - 455.
- ✓ Jones, G.M. and E.H. Seymour. 1988. Cowside Antibiotic Residue Testing. J. Dairy Sci. 1691 - 1699.
- Jones, M., N.H. Booth., and L.E. McDonald. 1977. Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 4th. Ed. Oxford and IBH Publishing Co. New Delhi, Bombay, Calcuta. 1325.
- ✓ Kucers, A. 1972. The Use Antibiotic, A Comprehensive Review With Clinical Emphasis. William Heinemann Medical Books Ltd. London. 62 - 73.
- Kusdarwati, R., W.Tyasningsih dan Sudarno. 1991. Petunjuk Pratikum Ilmu Penyakit Bakterial. Edisi I. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga, Surabaya. 30 - 35.3

- Kusriningrum, R. 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Universitas Airlangga, Surabaya. 54 - 80.
- ✓ Lennete, E.H., A. Ballows, W.J. Housler and J.P. Truant. 1980. Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology, Washington DC. 418 - 426.
- ✓ Mirnawati, S. 1985. Penyakit Mastitis & Cara Penanggulangannya. Ranch Peternakan Indonesia. No. 1, Januari s/d Februari 1985. 25 - 26.
- Poeloengan, M., D.S. Endhi dan H. Suprodjo. 1984. Inventarisasi Bakteri Dari Kejadian Mastitis Pada Sapi Perah Di Daerah Bogor dan Sekitarnya. Penyakit Hewan. 1984. 221.
- ✓ Poeloengan, T, 1981. Beberapa Penyakit Bakteri yang Penting Pada Sapi Perah. Media Komunikasi Peternak Sapi dan Kerbau Indonesia. Bulletin PPSI. No. 10, Bulan Oktober 1981. Tahun II. 14 - 16.
- ✓ Pramono, S.U. 1975. Kursus Kesehatan Daging. Direktorat Kesehatan Hewan dan Direktorat Jenderal Peternakan, Jakarta.
- ✓ Prawesthirini, S. 1978. Diagnosa Mastitis Secara Praktis Pada Sapi Perah. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Unair, Surabaya.
- Santoso, R.D. dan H.K. Mustadjab. 1992. Analisis Regresi. Edisi Pertama. Penerbit Andi Offset, Yogyakarta. hal. 9 - 26.
- ✓ Sarwedhi, E.H. 1990. Analisis Kuantitatif Residu Ampisilin Dalam Air Susu Sapi pada Kasus Mastitis Subklinis Setelah Pengobatan Dengan Ampisilin Natrium. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Unair, Surabaya.
- ✓ Schalm, O.W., E.J. Carrol, and N.C. Jain. 1971. Bovine Mastitis. Lea and Febiger. Philadelphia. 1 - 14, 48 - 67.
- ✓ Soewedo. 1983. Hasil-Hasil Olahan Susu, Ikan dan Daging Serta Telur. Liberty. Yogyakarta.
- ✓ Subronto. 1985. Ilmu Penyakit Ternak. Gajah Mada Universitas Press, Yogyakarta. 328 - 340.

- Sudarwanto. 1990. Residu Antibiotika Dalam Air Susu Ditinjau Dari Kesehatan Masyarakat Veteriner. Seminar Nasional Penggunaan Antibiotika Dalam Bidang Kedokteran Hewan. Jakarta.
- Villim, A.B., S.D. Moore and L. Laroque. 1979. Microbiological Determination of Penicillin G, Ampicillin and Cloxacillin Residues in Milk. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 62 : 1247 - 1250.
- Wattimena, J.R., N.C. Sugiarto, M.S. Widiarto, E.Y. Sukandar A.A. Soenardji, dan A.R. Setiadi. 1991. Farmakodinamika dan Terapi Antibiotika. Gajah Mada Universitas Press. 119 - 126.
- Wing, V.A. 1963. Dairy Cattle Management. Rair Publishing Cooperation. New York. p. 160 - 167.

L A M P I R A N

Lampiran 1. Cara Kerja dan Penafsiran Hasil Uji California Mastitis Test (CMT)

Cara Kerja Metoda California Mastitis Test (CMT)

Reagens :

Alkyl aryl sulfonate 0.5% ditambah NaOH 1.5%, kemudian sebagai indikator digunakan pH Brom cresol purple supaya reaksi lebih jelas.

Prosedur :

Air susu sapi tersangka dipancarkan langsung (*fore milk*) dari tiap kuartir ambing sesuai dengan tanda untuk masing-masing kuartir, sebanyak kurang lebih dua mililiter. Untuk membuang kelebihan air susu maka *paddle* atau pengayuh CMT diletakkan secara vertikal. Ke dalam *paddle*/pengayuh CMT ditambahkan reagen CMT sama banyak. Setelah itu *paddle* digoyang-goyang secara teratur pada bidang horisontal secara perlahan-lahan. Kemudian hasil dapat dibaca sesuai dengan tabel di bawah ini.

Penafsiran Hasil Uji California Mastitis Test (CMT)

Simbul	Bayangan	Reaksi yang tampak	Interpretasi
-	Negatif	Campuran tidak ada presipitasi, campuran seperti semula	0-200.000 sel per ml 0-25 % PMN
T	Trace	Presipitasi ringan yang cenderung hilang bila paddle digerakkan	150.000-500.000 sel per ml 30 - 40 % PMN
1	Lemah	Presipitasi jelas tetapi tidak ada kecenderungan ke arah gel	400.000-1.500.000 sel per ml 40-60 % PMN
2	Jelas	Campuran segera mengental, cenderung bergerak ke tepi cawan, tinggal di dasar cawan. Ketika gerakan dihentikan akan turun kembali menutupi dasar cawan.	800.000-5.000.000 sel per ml 60-70 % PMN
3	Positif kuat	Bentuk gel yang jelas, permukaan campuran konvek. Terdapat bentuk yang berpuncak pada pusat yang jelas.	sel lebih dari 5.000.000 per ml 70-80 % PMN
+	Susu alkalis pH 7.0 atau lebih	Tanda ini harus diberikan pada penilaian CMT bila reaksi bersifat alkalis yang ditunjukkan oleh warna ungu tua yang kontras.	Reaksi alkalis menggambarkan adanya tekanan terhadap aktifitas sekresi yang terjadi baik karena peradangan atau ada pengeringan kelenjar.
Y	Susu asam	Bromcresol purple kuning pada pH 5.2. Tanda ini harus ditambahkan jika campuran berwarna kuning.	Susu yang asam pada ambung jarang terjadi. Jika ada susu asam menunjukkan adanya fermentasi laktosa oleh bakteri.

Sumber : Schalm *et al.*, 1971.

Lampiran 2. Prosedur Tahapan Pengenceran Preparat Ampiclox Satu Dosis dan Analisi Statistik Kurva Baku Ampiclox

Menurut Wattimena dkk. (1991), ampiclox larut baik dalam air. Berdasarkan percobaan yang dilakukan dengan cara melarutkan preparat ampiclox satu dosis yang berisi lima ml, mengandung kombinasi 75 mg ampisilin sodium dan 200 mg kloxasilin sodium ke dalam beberapa pelarut aquabidest steril. Selanjutnya dibuat seri pengenceran dari larutan ampiclox, kemudian masing-masing konsentrasi larutan diuji dengan metoda difusi test (Lennete *et al.*, 1980).

Tahapan pengencerannya adalah sebagai berikut :

Larutan ampiclox 1 dosis

→	5 ml ampiclox + 5 ml aquabidest steril	--0.5 dosis
→	5 ml ampiclox + 1.25ml aquabidest steril	--0.4 dosis
→	5 ml ampiclox + 2.66ml aquabidest steril	--0.3 dosis
→	5 ml ampiclox + 1 ml aquabidest steril	--0.25 dosis
→	4.5ml ampiclox + 1.13ml aquabidest steril	--0.2 dosis
→	4.5ml ampiclox + 4.5 ml aquabidest steril	--0.1 dosis
→	5 ml ampiclox + 2.14ml aquabidest steril	--0.07 dosis
→	5 ml ampiclox + 2 ml aquabidest steril	--0.05 dosis
→	5 ml ampiclox + 3.3 ml aquabidest steril	--0.03 dosis
→	2 ml ampiclox + 4 ml aquabidest steril	--0.01 dosis
→	1 ml ampiclox + 0.43ml aquabidest steril	--0.007 dosis
→	0.5ml ampiclox + 0.5 ml aquabidest steril	--0.005 dosis
→	0.5ml ampiclox + 0.75ml aquabidest steril	--0.004 dosis
→	0.5ml ampiclox + 1.17ml aquabidest steril	--0.003 dosis
→	0.5ml ampiclox + 2 ml aquabidest steril	--0.002 dosis
→	1 ml ampiclox + 1 ml aquabidest steril	--0.001 dosis
→	0.5ml ampiclox + 4.5 ml aquabidest steril	--0.0001dosis

Kemudian masing-masing pengenceran ini diuji dengan metoda difusi test menggunakan kuman *Staphylococcus aureus*. Respon kuman penguji terhadap ampiclox dalam bentuk daerah hambatan, diukur dengan mistar dalam satuan milimeter.

2.1. Diameter daerah hambatan hasil pengujian larutan ampiclox

Kuman penguji	No.	Kadar Ampiclox (dalam dosis)	Diameter daerah hambatan (dalam mm)
<u>Staph. aureus</u>	1	0.5	37.368 ± 0.7771
	2	0.4	33.835 ± 3.2133
	3	0.3	32.566 ± 1.7709
	4	0.25	31.933 ± 2.8960
	5	0.2	29.884 ± 0.7209
	6	0.1	27.500 ± 2.7319
	7	0.07	27.334 ± 2.7487
	8	0.05	26.868 ± 0.9692
	9	0.03	26.416 ± 1.1263
	10	0.01	20.851 ± 0.8253
	11	0.007	18.818 ± 0.8175
	12	0.005	18.534 ± 0.6668
	13	0.004	17.401 ± 0.5787
	14	0.003	15.284 ± 1.4236
	15	0.002	14.167 ± 0.7906
	16	0.001	12.517 ± 0.8351
	17	0.0001	7.268 ± 0.5176

2.2. Diameter daerah hambatan larutan ampiclox yang digunakan sebagai kurva baku

		Kadar ampiclox dalam dosis				
		0.001	0.002	0.003	0.004	0.005
diameter daerah hambatan dalam mm	1	12.00	14.50	16.00	17.67	19.67
	2	13.67	15.00	12.00	17.17	18.00
	3	12.50	14.33	14.67	18.00	18.00
	4	13.00	13.50	15.00	18.00	18.33
	5	11.00	13.33	15.50	17.67	18.33
	6	11.66	14.50	16.00	17.33	18.67
	7	12.67	14.67	16.67	16.67	18.50
	8	12.33	14.67	14.33	16.33	18.50
	9	13.67	12.50	15.67	18.00	17.67
	10	12.67	14.67	17.00	17.17	19.67
\bar{X}		12.517	14.617	15.284	17.401	18.534

2.3. Analisis varian dari lampiran 2.2.

Sumber keragaman	DB	JK	KT	F hit.	F tab.	
					0.05	0.01
Kadar ampiclox	4	235.0831	58.7708			
Sisa	45	37.1580	0.8257	71.1769**	2.575	3.770
Jumlah	49	272.2411	—			

Keterangan : ** signifikan pada taraf probabilitas 1%

2.4. Analisis Regresi Linear

Rumus persamaan regresi linear adalah $Y = a + bx$. (1)

$$\text{dimana } b = \frac{n \sum_{i=1}^n xy - \left[\sum_{i=1}^n x \right] \left[\sum_{i=1}^n y \right]}{n \sum_{i=1}^n x^2 - \left[\sum_{i=1}^n x \right]^2}$$

$$= \frac{50 (2.4898) - (0.15) (779.03)}{50 (0.0006) - (0.15)^2}$$

$$= 1526.80$$

Dari rumus (1) didapatkan $a = y - bx$

$$\text{Sehingga } a = 15.5806 - (1526.80) (0.003)$$

$$= 11.0002$$

Kesimpulan : Persamaan regresi linier sebagai penduga model regresi yaitu $Y = 11.0002 + 1526.80$

2.5. Sidik Ragam Regresi dengan Uji Simpangan Model

Sumber keragaman	DB	JK	KT	F hit.	F tab.	
					0.05	0.01
Regresi	1	233	233			
Sisa	48	39.281	0.817	285.1897**	4.04	7.195
Sisa murni	45	37.158	0.826			
Simpangan model	3	2.083	0.694	0.8402 ^{ns}	2.815	4.253
Jumlah	49	272.241	—			

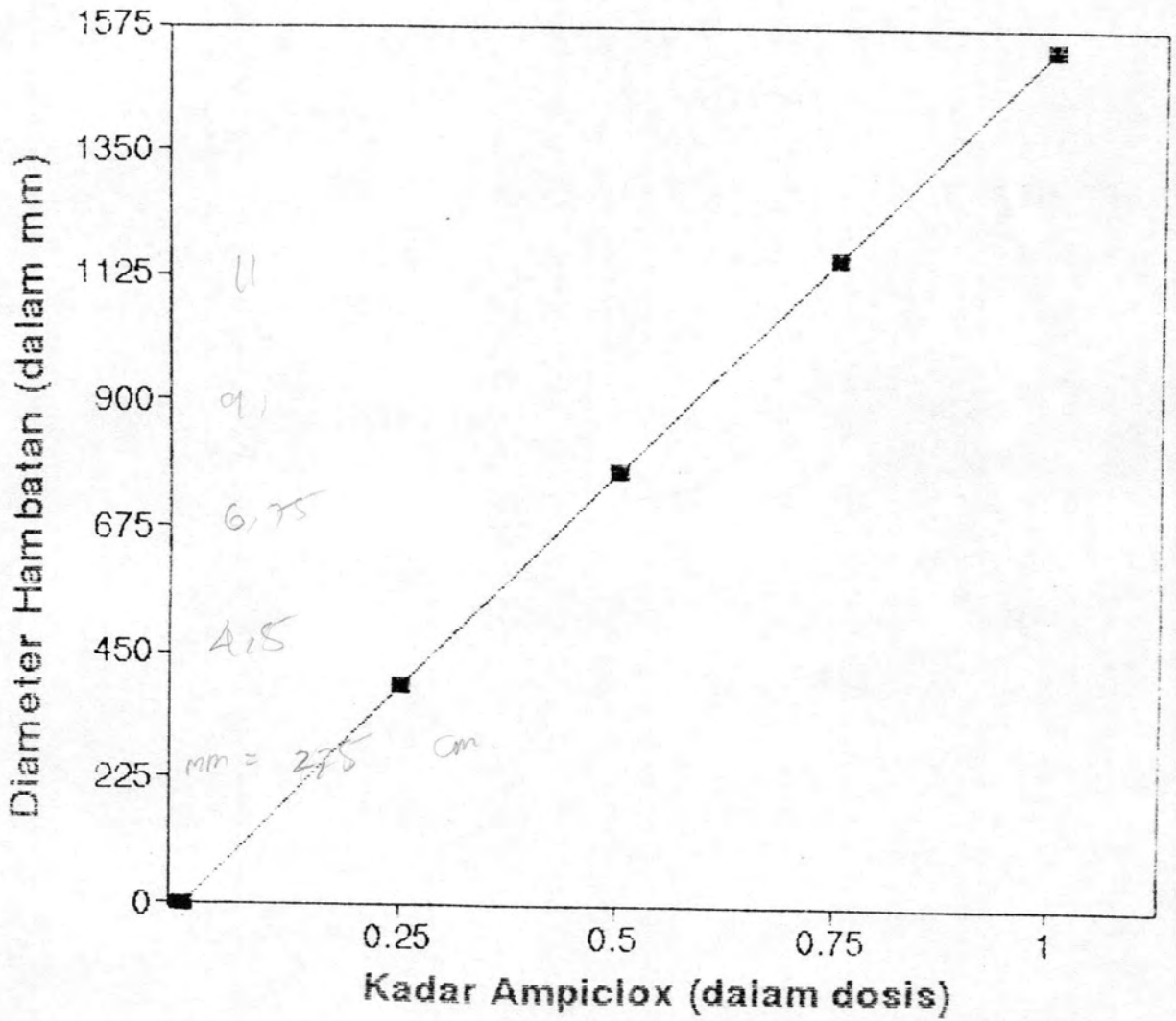
Keterangan : ** signifikan pada taraf probabilitas 1%
^{ns} non signifikan

Kesimpulan : F hitung simpangan model non signifikan (tidak berbeda nyata), nilai lebih kecil dari F tabel, sehingga model $Y = 11.0002 + 1526.80 X$ merupakan model yang sesuai dan dapat digunakan untuk menerangkan bentuk hubungan X dan Y.

Jadi : Ada hubungan linier antara kadar ampiclox (dalam dosis) dengan diameter hambatan (dalam mm).

Model persamaan regresi linier $\longrightarrow Y = 11.0002 + 1526.80 X$
 dimana harga a = 11.0002
 b = 1526.80

Jika X = 0.25 \longrightarrow Y = 392.7002
 0.50 \longrightarrow Y = 774.4002
 0.75 \longrightarrow Y = 1156.1002
 1.00 \longrightarrow Y = 1537.8002



Gambar 4. Kurva Baku Ampiclox

Lampiran 3. Rataan Diameter Hambatan Residu Ampiclox Dari Sampel Air Susu Pada Ambing yang Diobati Ampiclox Secara Intramammae Berdasarkan Metode Difusi Test (mm)

No. Sapi (Ulangan)	Hari pemeriksaan					
	1	2	3	4	5	6
I	24.25	24.58	24.93	21.33	12.66	—
II	23.53	24.83	25.87	21.00	13.33	—
III	23.77	24.67	25.75	19.00	11.66	—
IV	19.75	22.44	25.16	18.66	10.66	—
V	23.07	25.08	27.46	22.07	13.33	—
VI	19.80	22.89	27.92	19.14	10.60	—
VII	19.78	21.00	27.33	19.67	11.33	—
VIII	19.78	20.88	25.58	16.75	13.11	—
IX	21.00	21.50	28.44	20.00	12.33	—
X	21.89	24.71	24.83	21.11	10.25	—
Rata-rata	21.662	23.258	26.327	19.903	11.926	—
SD	1.8651	1.7090	1.3311	1.5624	1.1851	—

Keterangan : — berarti tidak terdapat diameter hambatan.

Lampiran 4. Evaluasi Statistik Hasil Rataan Kadar Residu Dalam Air Susu Pada Ambing yang Diobati Secara Intramam-mae Berdasarkan Kurva Baku Ampiclox (dalam dosis)

No. Sapi (Ulangan)	Hari Pemeriksaan					6
	1	2	3	4	5	
I	2.22 ⁻⁰²	2.34 ⁻⁰²	2.47 ⁻⁰²	1.17 ⁻⁰²	1.07 ⁻⁰³	0
II	1.96 ⁻⁰²	2.43 ⁻⁰²	2.80 ⁻⁰²	1.05 ⁻⁰²	1.49 ⁻⁰³	0
III	2.05 ⁻⁰²	2.37 ⁻⁰²	2.76 ⁻⁰²	7.27 ⁻⁰³	8.53 ⁻⁰⁴	0
IV	8.38 ⁻⁰³	1.57 ⁻⁰²	2.55 ⁻⁰²	5.89 ⁻⁰³	6.82 ⁻⁰⁴	0
V	1.80 ⁻⁰²	2.52 ⁻⁰²	9.28 ⁻⁰²	1.44 ⁻⁰³	1.43 ⁻⁰³	0
VI	8.45 ⁻⁰³	1.73 ⁻⁰²	1.18 ⁻⁰¹	7.92 ⁻⁰³	6.71 ⁻⁰⁴	0
VII	8.42 ⁻⁰³	1.05 ⁻⁰²	6.98 ⁻⁰²	8.26 ⁻⁰³	7.96 ⁻⁰⁴	0
VIII	8.42 ⁻⁰³	1.01 ⁻⁰²	2.70 ⁻⁰²	3.69 ⁻⁰³	1.36 ⁻⁰⁴	0
IX	1.05 ⁻⁰²	1.23 ⁻⁰²	1.39 ⁻⁰⁴	8.74 ⁻⁰³	9.68 ⁻⁰⁴	0
X	1.37 ⁻⁰²	2.39 ⁻⁰²	2.43 ⁻⁰²	1.09 ⁻⁰²	6.11 ⁻⁰⁴	0
Rata-rata	1.38 ⁻⁰¹	1.87 ⁻⁰¹	5.77 ⁻⁰¹	8.93 ⁻⁰²	9.93 ⁻⁰³	0

Keterangan : 0 = berarti tidak terdapat kadar residu ampiclox 1 dosis mengandung 75 mg ampicilin sodium dan 200 mg kloksasilin sodium

Daftar Sidik Ragam (Analisis Varian)

S.K.	db	J.K.	K.T.	F hit.	F tab.	
					0.05	0.
Perlakuan	4	1.94 ⁻⁰²	4.86 ⁻⁰³	6.86 ^{**}	2.575	3.0
Sisa	45	3.19 ⁻⁰²	7.09 ⁻⁰⁴			
Total	49	5.13 ⁻⁰²				

Kesimpulan : Selang waktu pemeriksaan memberikan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0.01$) terhadap kadar residu ampiclox dalam air susu pada ambing yang diobati secara intramammae. Dengan demikian H_0 ditolak.

Selisih Rata-rata Perlakuan

P	X	X - E	X - D	X - A	X - B	BNT 5%
C	5.77 ^{-02a}	5.67 ^{-02*}	4.87 ^{-02*}	4.38 ^{-02*}	3.90 ^{-02*}	2.4 ^{-02*}
B	1.87 ^{-02b}	1.77 ⁻⁰²	9.72 ⁻⁰³	4.83 ⁻⁰³		
A	1.38 ^{-02b}	1.28 ⁻⁰²	4.89 ⁻⁰³			
D	8.93 ^{-03b}	7.94 ⁻⁰³				
E	9.93 ^{-04b}					

Keterangan : A (hari ke-1)

B (hari ke-2)

C (hari ke-3)

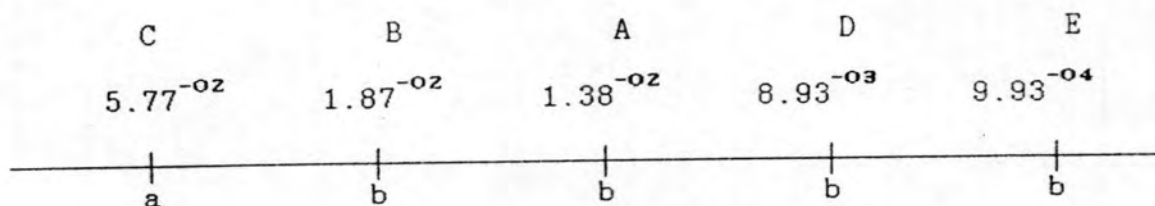
D (hari ke-4)

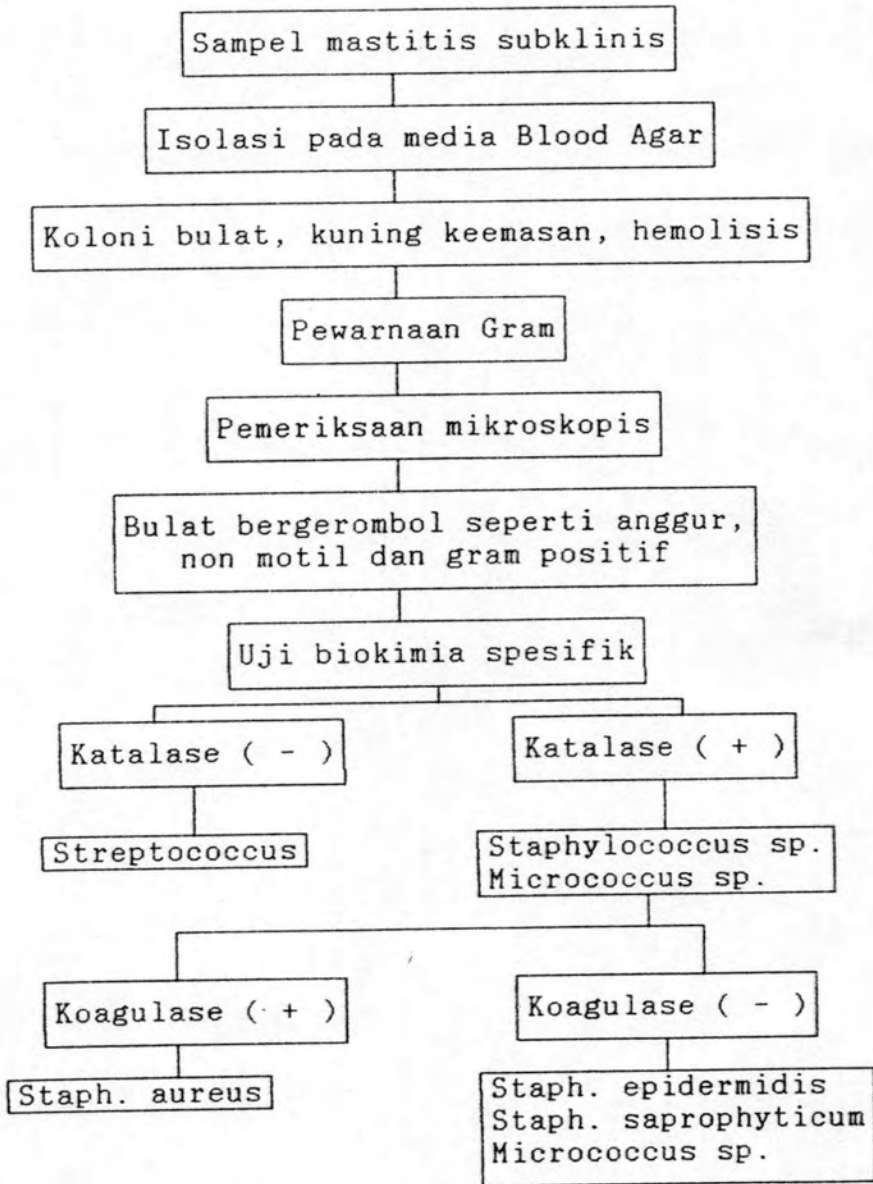
E (hari ke-5)

Superskrip a, b, yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0.05$).

Kesimpulan : Pemeriksaan hari ketiga menghasilkan kadar residu ampiclox tertinggi yang berbeda nyata dengan pemeriksaan hari lainnya. Kadar residu ampiclox terendah terdapat pada pemeriksaan hari pertama, kedua, keempat dan kelima.

Menentukan Notasi.



Lampiran 5. Bagan Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Lampiran 6. Cara Kerja Identifikasi *Staphylococcus aureus*

Pemeriksaan mikroskopis (pewarnaan gram)

Pewarnaan ini dilakukan dengan cara mengambil koloni *Staphylococcus sp.* dari pupukan sampel yang telah diinkubasi selama 24 jam dari media Blood Agar dengan ose, diletakkan pada gelas alas yang telah ditetesi NaCl fisiologi, kemudian ratakan sehingga menjadi suspensi bakteri yang homogen. Kemudian dikeringkan dan difiksasi di atas nyala api bunsen.

Pewarnaan dengan karbol gentian violet selama dua sampai tiga menit, larutan lugol diteteskan selama dua menit kemudian dilunturkan dengan alkohol aseton dan cuci obyek glass dengan air kran. Setelah itu pewarnaan dengan saffranin selama dua menit, dicuci lagi dengan air kran dan dikeringkan di udara dengan kertas penghisap.

Sediaan diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali. Bakteri yang bersifat gram positif tampak berwarna ungu (violet) sedangkan bakteri yang bersifat gram negatif berwarna merah.

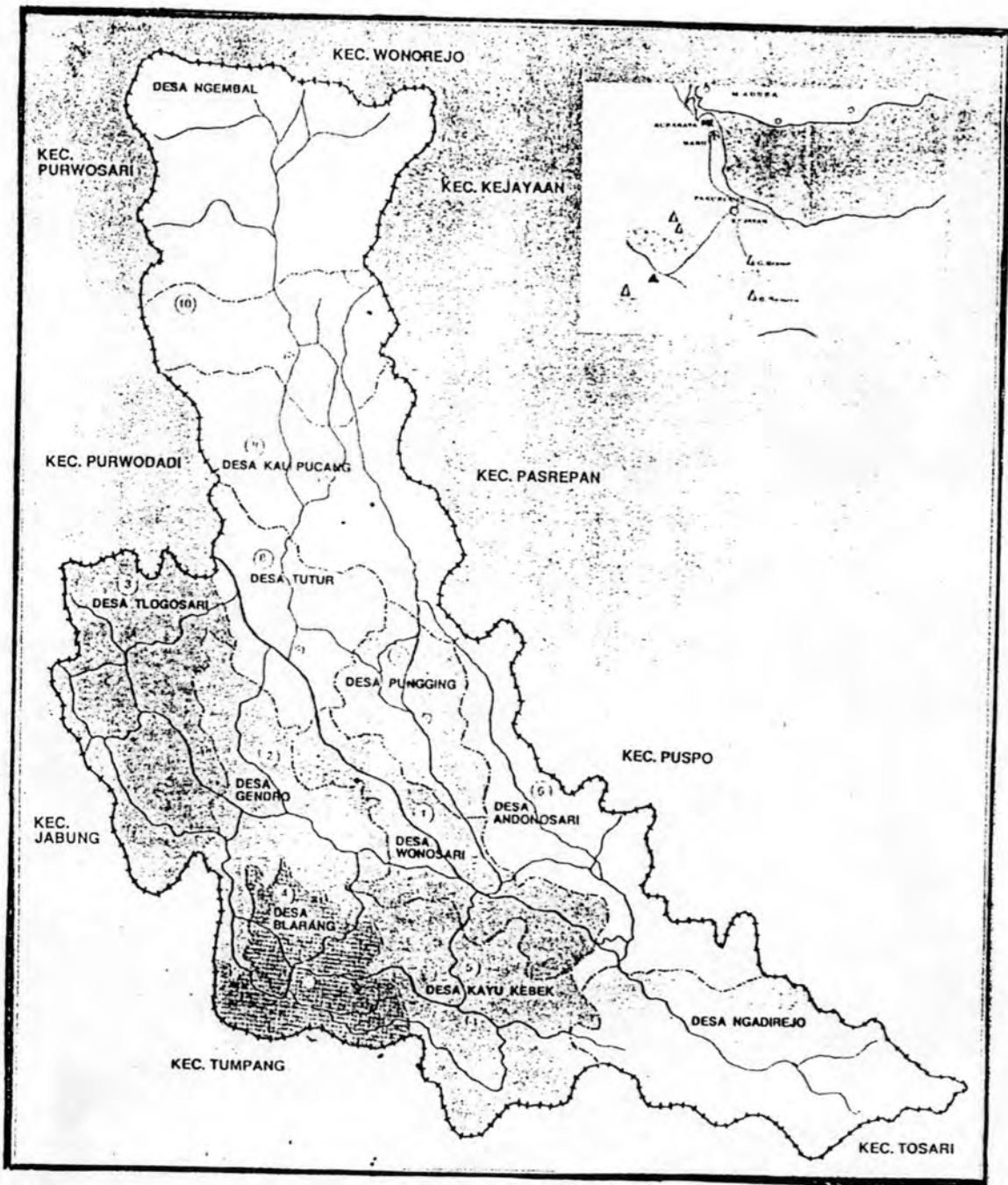
Uji katalase

Uji ini dilakukan dengan cara mengambil koloni *Staphylococcus sp.* kemudian dicampur dengan H_2O_2 3% pada gelas alas. Katalase positif apabila terbentuk gelembung-gelembung udara.

Uji Koagulase

Uji ini dilakukan dengan cara membuat suspensi kuman *Staphylococcus sp.* dalam BHI (Brain Heart Infusion), dieramkan $37^{\circ}C$ selama 24 jam. Kemudian ditambahkan 0.5 ml suspensi kuman *Staphylococcus sp.* dengan 0.5 ml plasma darah kelinci, diinkubasi $37^{\circ}C$ selama empat jam. Koagulase positif apabila antara suspensi kuman *Staphylococcus sp.* dengan plasma darah kelinci mengalami pembekuan.

Lampiran 7. Peta Lokasi Wilayah Kerja Koperasi Unit Desa Setia Kawan



Lampiran 8. Daftar t

Derajat		t		Derajat		t		Derajat		t	
bebas				bebas				bebas			
	95%	99%		95%	99%		95%	99%		95%	99%
1	12.706	63.657	23	2.069	2.007	56	2.003	2.667			
2	4.303	9.925	24	2.064	2.797	58	2.001	2.663			
3	3.182	5.041	25	2.060	2.787	60	2.000	2.660			
4	2.776	4.604	26	2.056	2.779	62	1.999	2.658			
5	2.571	4.032	27	2.052	2.771	64	1.998	2.655			
6	2.447	3.707	28	2.048	2.763	65	1.997	2.653			
7	2.365	3.449	29	2.045	2.756	66	1.996	2.652			
8	2.306	3.355	30	2.042	2.750	68	1.995	2.650			
9	2.262	3.250	32	2.037	2.730	70	1.994	2.648			
10	2.228	3.169	34	2.032	2.720	72	1.993	2.646			
11	2.201	3.106	35	2.030	2.724	74	1.992	2.644			
12	2.179	3.055	36	2.028	2.720	75	1.992	2.642			
13	2.160	3.012	38	2.024	2.712	78	1.990	2.640			
14	2.145	2.977	40	2.021	2.704	80	1.989	2.639			
15	2.131	2.947	42	2.018	2.698	82	1.988	2.637			
16	2.120	2.921	44	2.015	2.692	84	1.987	2.635			
17	2.110	2.898	45	2.014	2.6895	86	1.987	2.634			
18	2.101	2.878	46	2.013	2.687	88	1.986	2.632			
19	2.093	2.861	48	2.010	2.682	90	1.986	2.631			
20	2.086	2.845	50	2.008	2.678	92	1.986	2.630			
21	2.080	2.831	52	2.006	2.674	94	1.986	2.629			
22	2.074	2.819	54	2.005	2.670	96	1.984	2.627			
			55	2.004	2.6685	100	1.982	2.625			

Sumber : Kusrieningrum (1989)

Lampiran 9. Daftar F

Derajat bebas galat	Derajat bebas perlakuan							
	1		2		3		4	
	0.05	0.01	0.05	0.01	0.05	0.01	0.05	0.01
1	161	4.052	200	4.999	216	5.403	225	5.625
2	10.51	90.49	19.00	99.01	19.16	99.17	19.25	99.25
3	10.13	34.12	9.55	30.01	9.20	29.46	9.12	20.71
4	7.71	21.29	6.94	10.00	6.59	16.69	6.39	15.90
5	6.61	16.26	5.79	13.27	5.41	12.06	5.19	11.39
6	5.99	13.74	5.14	10.92	4.76	9.70	4.53	9.15
7	5.59	12.25	5.74	9.55	4.35	8.45	4.12	7.85
8	5.32	11.26	4.46	8.65	4.07	7.59	3.84	7.01
9	5.12	10.56	4.26	8.02	3.86	6.99	3.63	6.42
10	4.96	10.04	4.10	7.56	3.71	6.55	3.40	5.99
11	4.84	9.65	3.90	7.20	3.59	6.22	3.36	5.67
12	4.75	9.33	3.80	6.93	3.49	5.95	3.26	5.41
13	4.67	9.07	3.80	6.70	3.41	5.74	3.18	5.20
14	4.60	8.86	3.74	6.51	3.34	5.56	3.11	5.03
15	4.54	8.68	3.68	6.36	3.29	5.42	3.06	4.89
16	4.49	8.53	3.63	6.23	3.24	5.29	3.01	4.77
17	4.45	8.00	3.59	6.11	3.20	5.10	2.96	4.67
18	4.41	8.20	3.55	6.01	3.16	5.07	2.93	4.58
19	4.38	8.10	3.52	5.93	3.13	5.01	2.90	4.50
20	4.35	8.10	3.49	5.85	3.10	4.94	2.87	4.43
21	4.32	8.02	3.47	5.78	3.07	4.87	2.84	4.37
22	4.30	7.94	3.44	5.72	3.05	4.82	2.82	4.31
23	4.28	7.88	3.42	5.66	3.03	4.76	2.80	4.26
24	4.26	7.82	3.44	5.61	3.01	4.72	2.78	4.22
25	4.24	7.77	3.38	5.57	2.99	4.68	2.76	4.18
26	4.22	7.72	3.37	5.53	2.98	4.64	2.74	4.14
27	4.21	7.68	3.35	5.49	2.96	4.60	2.73	4.11
28	4.20	7.64	3.34	5.45	2.95	4.57	2.71	4.07
29	4.18	7.60	3.33	5.42	2.93	4.54	2.70	4.04
30	4.17	7.56	3.32	5.39	2.92	4.51	2.69	4.02
32	4.15	7.50	3.30	5.34	2.90	4.46	2.67	3.97
34	4.13	7.44	3.28	5.29	2.88	4.42	2.65	3.93
38	4.10	7.35	3.25	5.21	2.85	4.34	2.62	3.86
42	4.07	7.27	3.22	5.15	2.83	4.29	2.59	3.80
46	4.05	7.21	3.20	5.10	2.81	4.24	2.57	3.76

Sumber : Kusningrum (1989)

Lampiran 10. Gambaran Pengayuh CMT dan Reagen CMT

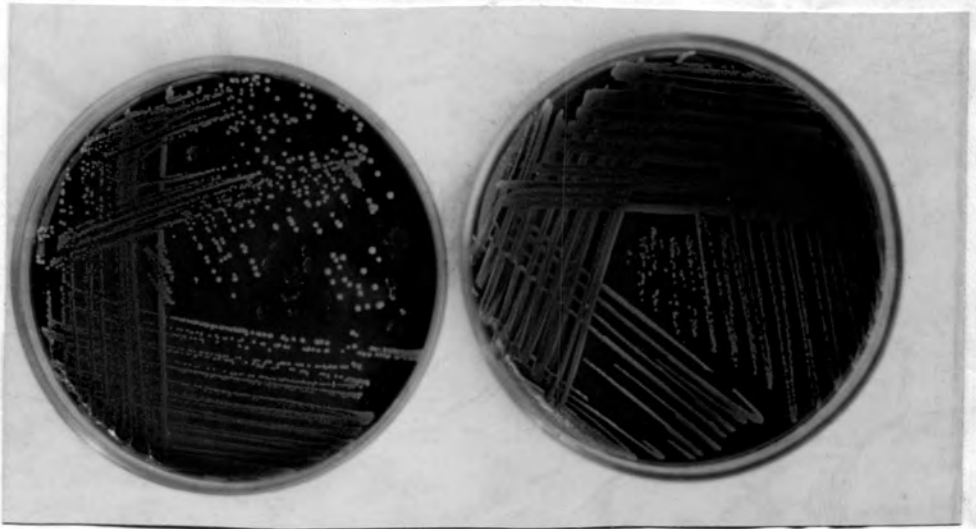


Lampiran 11. Gambaran Hasil CMT.

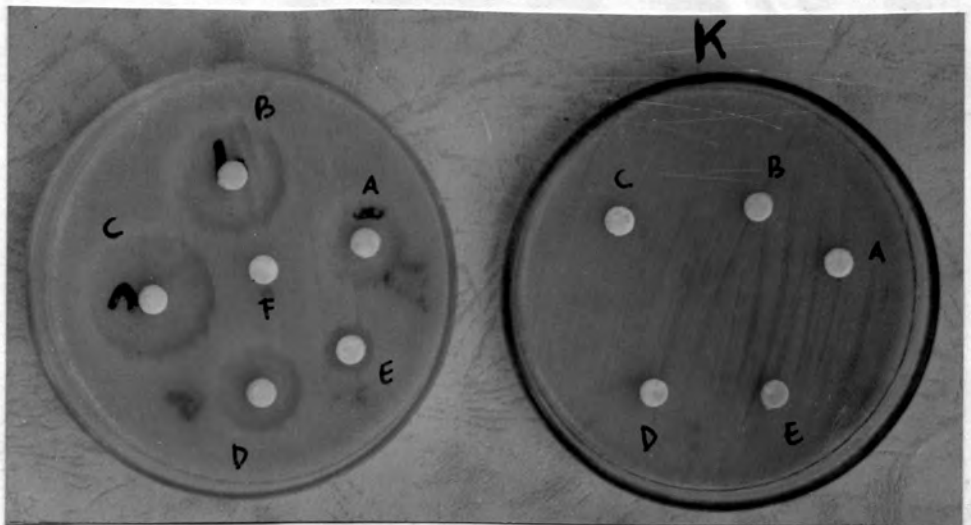


Ujung kiri menunjukkan positip mastitis, kekentalannya berbeda dengan yang lainnya.

Lampiran 12. Gambaran koloni *Staphylococcus aureus* pada media Blood Agar, hasil isolasi dari sampel mastitis subklinis

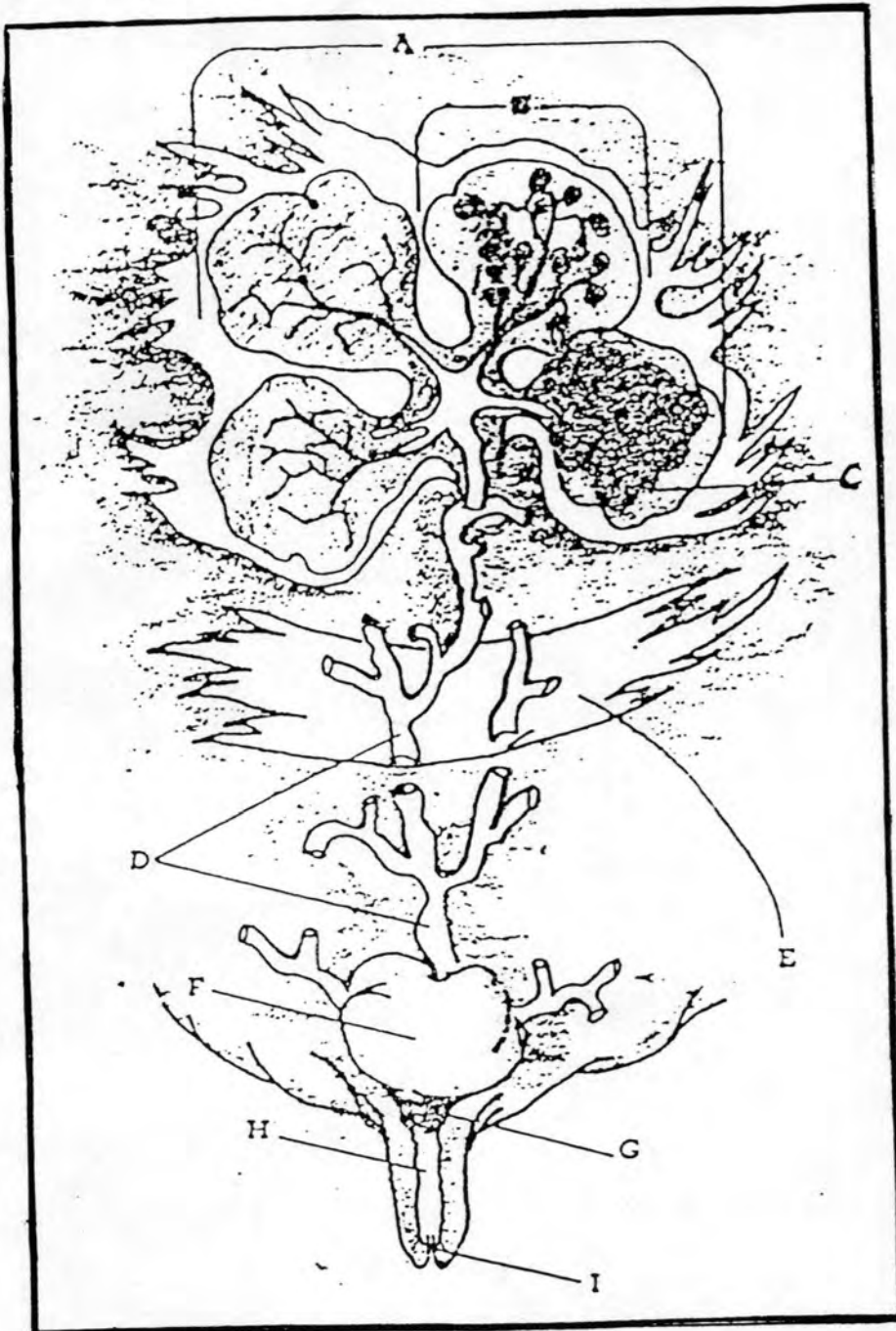


Lampiran 13. Gambaran pemeriksaan mikrobiologis analisis kuantitatif residu ampiclox dalam air susu



- A. Pemeriksaan hari pertama
- B. Pemeriksaan hari kedua
- C. Pemeriksaan hari ketiga
- D. Pemeriksaan hari keempat
- E. Pemeriksaan hari kelima
- F. Pemeriksaan hari keenam

Lampiran 14. Gambaran anatomi ambing



A. Lobus kelenjar susu. B. Lobulus kelenjar susu. C. Alveolus (penghasil air susu). D. Duktus laktiferus. E. Jaringan ikat. F. Sisterna kelenjar. G. Rosette Furstenburg. H. Sisterna puting. I. Duktus papillaris.