

SKRIPSI

**PREVALENSI *Staphylococcus aureus* PADA SUSU YANG BERASAL DARI
AMBING SAPI PERAH SEHAT DI SURABAYA DAN KEPEKAANNYA
TERHADAP BEBERAPA ANTIBIOTIKA**



Oleh :

**SRI REZEKI
BANDUNG –JAWA BARAT**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2004**

**PREVALENSI *Staphylococcus aureus* PADA SUSU YANG BERASAL DARI
AMBING SAPI PERAH SEHAT DI SURABAYA DAN KEPEKAANNYA
TERHADAP BEBERAPA ANTIBIOTIKA**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga


Oleh:

SRI REZEKI
069912686

Menyetujui

Komisi Pembimbing


Tiuk Imam Restiadi, M.Si., drh.
Pembimbing Pertama


Benjamin Chr. Tehupuring, M.Si., drh.
Pembimbing Kedua

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**.

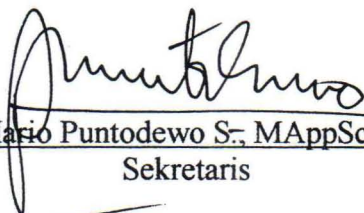
Menyetujui

Panitia Penguji



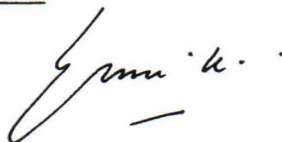
Rr. Ratih Ratnasari, S.U., drh

Ketua



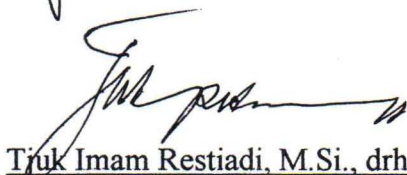
Dr. Hario Puntodewo S., MAppSc., drh.

Sekretaris



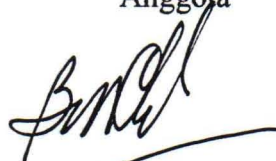
Erni Rosilawati, S. I., M.S., drh.

Anggota



Tjuk Imam Restiadi, M.Si., drh.

Anggota



Benjamin Chr. Tehupuring, M.Si, drh.

Anggota

Surabaya, 25 Mei 2004

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan



Prof. Dr. Ismudiono, M.S. drh.

NIP. 130687297

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas karunia dan rahmat yang dilimpahkan, sehingga penyusunan makalah berhasil diselesaikan.

Penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada Bapak Tjuk Imam Restiadi, MSi., drh. selaku pembimbing pertama dan Bapak Benjamin Chr. Tehupuring, MSi., drh. selaku pembimbing kedua yang selalu bersedia meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, saran, dan nasihat yang sangat berguna dalam penyusunan makalah ini.

Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Dekan beserta para Pembantu Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bantuan moral dan material serta kesempatan yang telah diberikan. Juga kepada Bapak Dadik Rahardjo MKes., drh. yang memberikan bimbingan selama penelitian, Ibu Soetji Prawesthirini, drh., SU (Kepala Laboratorium Kesehatan Susu dan Daging Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga), Bapak DR. Dr. Edy Bagus SpMk (Kepala Laboratorium Gastroenteritis *Tropical Disease Research Center*/TDRC Universitas Airlangga), serta seluruh staf Laboratorium Kesehatan Susu dan Daging Fakultas Kedokteran Hewan dan Laboratorium Gastroenteritis TDRC Universitas Airlangga atas kesempatan, sarana, dan saran yang diberikan demi kelancaran penelitian dan penulisan skripsi ini.

Rasa terima kasih yang tak terhingga penulis sampaikan atas dorongan semangat dan doa restunya selama pelaksanaan penulisan makalah ini kepada ibunda dan kedua kakakku tercinta. Kepada kedua rekan seperjuangan Rianti dan

Nani yang turut berbagi suka maupun duka ketika penelitian, kepada Rina, Nanta, Angky, Indro, Danang, Nina, Niken, serta Ucok dan Happy yang selalu membantu kapan dan dimanapun, penulis ucapkan beribu-ribu terima kasih atas segala bantuan yang tak ternilai harganya. Kalian adalah teman-temanku yang terbaik, juga kepada Yudha, Suharjono, Wahyu, Hengky, Mas Wing terima kasih buat komputernya, seluruh angkatan 99 dan teman-teman di kos karang menjangkan selamat berjuang.

Akhirnya kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang turut pula memberikan bantuan serta perhatiannya, diucapkan terima kasih.

Semoga seluruh amal yang telah diberikan mendapatkan imbalan yang setimpal dari Allah SWT. Amien.

**PREVALENSI *Staphylococcus aureus* PADA SUSU YANG BERASAL DARI
AMBING SAPI PERAH SEHAT DI SURABAYA DAN KEPEKAANNYA
TERHADAP BEBERAPA ANTIBIOTIKA**

Sri Rezeki

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat penyebaran *Staphylococcus aureus* pada susu sapi perah sehat di beberapa peternakan sapi perah Surabaya serta kepekaannya terhadap beberapa antibiotika yang umum digunakan untuk terapi mastitis.

Staphylococcus aureus didapat dari 108 sampel susu yang berasal dari 108 kuartir sapi perah peternakan sapi perah di Bendul Merisi, Jemur Sari, dan Wonocolo setelah dilakukan isolasi dan identifikasi dari media umum hingga yang paling selektif, antara lain: isolasi pada media *Nutrient Agar* (NA), isolasi pada media *Blood Agar* (BA), pewarnaan Gram, uji katalase, uji fermentasi pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA), dan uji koagulase. Isolat murni yang dihasilkan kemudian diuji kepekaannya terhadap antibiotika yang memiliki cincin β -laktam menggunakan metode Kirby-Bauer Agar disk difusi.

Penelitian ini didapatkan 15% sampel positif mengandung *Staphylococcus aureus* dari peternakan A, yang mana 33.33% telah resisten terhadap penicillin G, terhadap ampicillin belum satupun yang resisten, sisanya pada tingkat intermediate (33.33%) dan sensitif (66.67%), dan terhadap methicillin 100% masih sensitif. Peternakan B menghasilkan 36.84% sampel yang positif, yang mana diantaranya 85.71% telah resisten terhadap penicillin G dan masing-masing 7.14% untuk intermediate dan sensitif. Peternakan C mendapatkan 20% sampel positif, 50% diantaranya telah resisten terhadap penicillin G, 25% intermediate terhadap ampicillin, dan sisanya masih sensitif terhadap methicillin. Sampel di peternakan D seluruhnya tidak mengandung *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
ABSTRAK.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang Permasalahan.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan.....	4
1.4. Manfaat.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	6
2.2. Mastitis.....	10
2.3. Terapi Antibiotika.....	15
BAB III. MATERI DAN METODE PENELITIAN	
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	26
3.2. Materi Penelitian.....	26
3.3. Metode Penelitian.....	27
3.4. Analisis Data.....	32

BAB IV. HASIL PENELITIAN.....	33
BAB V. PEMBAHASAN.....	34
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	41
RINGKASAN.....	43
DAFTAR PUSTAKA.....	45
LAMPIRAN.....	49

DAFTAR TABEL

Nomor:	Halaman
1. Zona hambatan antibiotika terhadap pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> berdasarkan NCCLS <i>Approved Standard M2-A7</i>	32
2. Persentase jumlah sampel yang positif mengandung <i>Staphylococcus aureus</i> dan kepekaannya terhadap antibiotika.....	33
3. Data hasil isolasi dan identifikasi dari peternakan A.....	50
4. Data hasil isolasi dan identifikasi dari peternakan B.....	51
5. Data hasil isolasi dan identifikasi dari peternakan C.....	52
6. Data hasil isolasi dan identifikasi dari peternakan D.....	53
7. Data hasil pengujian kepekaan terhadap beberapa antibiotika di peternakan A.....	54
8. Data hasil pengujian kepekaan terhadap beberapa antibiotika di peternakan B.....	54
9. Data hasil pengujian kepekaan terhadap beberapa antibiotika di peternakan.....	55

DAFTAR GAMBAR

Nomor:	Halaman
1. Tiga faktor utama yang terlibat dalam perkembangan penyakit mastitis.....	9
2. Jalur utama dari transmisi bakteri.....	10
3. Struktur kelenjar ambing menunjukkan puting dan kelenjar sisterna, saluran susu, dan jaringan glandular...	14
4. Perkembangan mastitis dan pertahanan sapi terhadap infeksi.....	14
5. Penicillin dan bermacam derivatnya.....	17
6. Struktur kimia dasar penicillin G	18
7. Struktur kimia dasar ampicillin.....	19
8. Struktur kimia dasar methicillin.....	21
9. Skema tahapan proses isolasi dan identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> dan uji kepekaan antibiotika...	27
10. Isolasi pada Media NA.....	56
11. Isolasi pada Media BA.....	56
12. Pewarnaan Gram (pembesaran 1000x).....	56
13. Uji Katalase.....	57
14. Uji Fermentasi pada Media MSA.....	57
15. Uji Koagulase.....	57
16. Uji Kepekaan Antibiotika.....	58

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor:	Halaman
1. Tabel data hasil isolasi dan identifikasi dari beberapa peternakan.....	50
2. Tabel data hasil pengujian kepekaan terhadap beberapa antibiotika.....	54
3. Foto-foto hasil dari isolasi dan pengujian terhadap <i>Styaphylococcus aureus</i>	56

BAB I
PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Permasalahan

Susu merupakan bahan pangan yang cukup dibutuhkan dan digemari oleh sebagian besar masyarakat. Selain karena rasanya yang gurih, susu juga mengandung zat yang bergizi tinggi seperti protein, lemak, karbohidrat, dan mineral yang sangat dibutuhkan oleh tubuh untuk menjaga kesehatan terutama pada masa-masa pertumbuhan (Giovannini, 1998).

Saat ini, banyak sekali ditemukan industri-industri yang memanfaatkan susu sebagai bahan utama atau tambahan untuk pengolahan produk-produk pangan seperti keju, yoghurt, susu instant, dan masih banyak lagi. Susu yang dimanfaatkan sebagai bahan utama atau tambahan dalam pengolahan produk pangan harus memenuhi syarat, diantaranya bersih dan bebas residu antibiotika. Selain itu, susu harus dipasteurisasi sebelum dikonsumsi atau diproses lebih lanjut karena mengonsumsi produk-produk susu yang tidak dipasteurisasi merupakan resiko/bahaya mikrobiologikal yang berpotensi untuk menimbulkan *foodborne disease* (Murinda *et al.*, 2001). Susu yang terkontaminasi mikroorganisme patogen (baik yang berasal dari hewan, manusia, atau lingkungan) menunjukkan resiko/bahaya terhadap kesehatan manusia (Giovannini, 1998).

Hal utama yang harus diperhatikan untuk menghasilkan susu yang bersih dan bebas residu antibiotika adalah manajemen peternakan sapi perah. Manajemen merupakan faktor penting dalam transmisi mikroorganisme patogen ke dalam ambing sapi seperti kebersihan tangan pemerah, bahan-bahan pembersih ambing, prosedur pengobatan terhadap penyakit, serta kebersihan dan sanitasi kandang secara keseluruhan (Mellenberger, 1996 and Giovannini, 1998).

Dampak yang dirasakan hingga saat ini bila hal tersebut di atas tidak dilakukan adalah timbulnya penyakit mastitis. Mastitis merupakan penyakit yang paling mahal dan sering terjadi di peternakan sapi perah hampir di seluruh dunia, salah satunya disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* (30–40%). Mastitis yang disebabkan oleh bakteri tersebut umumnya dalam bentuk kronis dan subklinis, yang mana baik perubahan susu maupun perubahan pada ambing tidak terdeteksi (Jones, 1998). Jika tidak ditangani, mastitis subklinis dapat berkembang menjadi mastitis klinis yang dikenali dengan perubahan pada susu dan ambing (Buzalski and Huovinen, 1999).

Terapi antibiotika untuk mastitis masih menjadi suatu pilihan bagi beberapa peternakan sapi perah (Mellenberger, 1996). Mastitis tidak dengan segera merespon terapi karena telah terbentuk kantung-kantung yang berasal dari jaringan parut (ikat) sehingga menghambat penetrasi obat ke dalam ambing (Wattiaux, 1996). Hewan terinfeksi lebih baik dipisahkan dari hewan-hewan lain yang sehat bahkan diafkir, karena apabila terapi dilanjutkan bukan kesembuhan yang dicapai melainkan timbulnya resistensi bakteri terhadap antibiotika yang digunakan (*Report of the Irish Medicines Board To The Minister for Agriculture*

& *Food on the availability of Intramammary Products*, 1999). Bahkan saat ini, prevalensi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) terus meningkat di beberapa negara dan pengobatan terhadap infeksi staphylococcal menjadi lebih sulit akibat munculnya strain-strain yang resisten terhadap sejumlah obat (Sanchez *et al.*, 2000 dalam Kahl *et al.*, 2003; Lowy, 2003). Berry (2001) menyatakan bahwa tingginya penggunaan antibiotika untuk terapi selain menyebabkan peningkatan resistensi, juga menyebabkan penumpukkan residu antibiotika dalam susu. Bagaimanapun, keprihatinan telah bertambah untuk beberapa waktu melalui kemungkinan penggunaan antibiotika yang sembarangan atau tidak perlu untuk profilaksis. Sapi yang telah sembuh dari mastitis tetap beresiko tinggi terhadap kesehatan masyarakat.

Hal-hal tersebut yang menjadi dasar permasalahan dan keingintahuan penulis untuk mengetahui apakah susu yang berasal dari ambing sapi perah yang sehat benar-benar bebas dari kontaminasi *Staphylococcus aureus* dan apabila ada, bagaimana kepekaannya (*susceptibility*) terhadap antibiotika yang umum digunakan untuk melawan bakteri tersebut.

Atas dasar pemikiran tersebut penulis melakukan penelitian terhadap susu yang berasal dari ambing sapi sehat dengan melakukan uji diagnosa sederhana yaitu mengisolasi *Staphylococcus aureus* kemudian diuji kepekaannya (resistensi/sensitifitas) terhadap antibiotika (*antibiotic susceptibility testing*) secara *in vitro* (Tikofsky and Schukken, 2002).

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan hal-hal tersebut penulis merasa perlu melakukan penelitian untuk mengetahui:

1. Apakah susu yang berasal dari sapi perah sehat bebas dari kontaminasi *Staphylococcus aureus* dan bila ada, berapa prevalensinya di peternakan Surabaya.
2. Bagaimana kepekaan bakteri tersebut terhadap beberapa antibiotika yang umum digunakan untuk terapi mastitis.

1.3. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui angka prevalensi *Staphylococcus aureus* pada susu sapi perah sehat di peternakan Surabaya.
2. Mengetahui kepekaan bakteri tersebut terhadap beberapa antibiotika yang umum digunakan untuk terapi mastitis.

1.4. Manfaat

Beberapa manfaat yang didapat dari penelitian ini, yaitu:

1. Penelitian ini dapat dijadikan sebagai pemeriksaan dini terhadap kualitas susu dari kuarter sapi perah sehat untuk menduga penyebab mastitis bila suatu saat kuarter yang mengandung *Staphylococcus aureus* menderita mastitis.
2. Membuat data dasar untuk penanganan atau pencegahan mastitis sehingga petugas kesehatan hewan dan para peternak dapat mengetahui antibiotika-antibiotika mana yang masih bisa dan aman digunakan untuk terapi mastitis (*drug of choice*) dan menghindari penggunaan antibiotika yang sudah tidak mampu melawan aktifitas *Staphylococcus aureus*.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Staphylococcus aureus*

2.1.1. Taksonomi dan klasifikasi

Klasifikasi dan identifikasi organisme adalah dua hal yang terpisah tetapi proses-prosesnya saling berhubungan. Lebih dari seabad bakteri telah diklasifikasikan berdasarkan reaksi Gram-nya, dinamakan setelah Christian Gram yang menemukan protokol untuk proses pewarnaan pada tahun 1884. Hal ini berdasarkan atas kemampuan bakteri untuk menahan *crystal-violet-iodine complex* ketika diperlakukan dengan bahan-bahan pelarut organik seperti aseton atau alkohol. Gram-positif menahan pewarnaan, dan karena itu tampak ungu atau biru kehitaman ketika dilihat melalui mikroskop *bright-field*. Selain itu para bakteriologis juga menggunakan bentuk bakteri untuk penggolongannya. Bakteri memperlihatkan tiga bentuk dasar: bulat (*cocci*, dari bahasa Yunani *kokkos* – buah beri), bentuk batang (*bacilli*, dari bahasa Latin *bacillus* – stik atau batang), atau spiral (Heritage, 2002).

Quinn *et al.* (2002) menyatakan bahwa kehidupan organisme secara mikroskopis diklasifikasikan berdasarkan pada bentuk *phenotypic expression* dasar termasuk morfologi dan sifat-sifat berbeda yang merefleksikan sifat-sifat metabolik yang unik. Selanjutnya, metode-metode klasifikasi untuk mikroorganisme sangat tergantung pada analisis genotip. Dalam tahun-tahun

belakangan, hal tersebut membawa pada perubahan dalam klasifikasi dan tata nama mikroorganisme.

Todar (2002) menyatakan, secara taksonomi genus *Staphylococcus* termasuk ke dalam famili bakteri *Micrococcaceae*, akan tetapi staphylococci secara filogenital tidak berhubungan dengan genera lain dalam famili tersebut. Varietas kriteria genetik yang luas mengindikasikan bahwa genus *Staphylococcus* membentuk sebuah grup natural yang bertalian secara logis (*coherent*) yang berbeda dari genus *Micrococcus*. Menurut dasar analisis 16s RNA, genus *Staphylococcus* termasuk ke dalam kelompok besar *Bacillus-Lactobacillus-Streptococcus*. Kerabat terdekat staphylococci muncul menjadi planococci, enterococci, dan bacilli. Sedangkan kerabat terdekat Micrococci adalah arthrobacter.

Berikut ini adalah klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan rekomendasi dari *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd Edition (Biology et Recherche, 2001)*:

Super kingdom: Prokaryota
Kingdom : Eubacteria
Phylum : Firmicutes
Class : Bacilli
Ordo : Bacillates
Family : Staphylococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Species : *Spahylococcus aureus*

Sejak kebanyakan strain-strain yang diisolasi dari infeksi staphylococcal memproduksi pigmen kuning keemasan, organisme tersebut dinamakan *Staphylococcus aureus* untuk membedakannya dari staphylococci yang kurang/tidak patogen yang biasanya memproduksi koloni-koloni putih, bagaimanapun produksi pigmen merupakan sebuah ciri pembawaan (sifat) dari staphylococci namun korelasinya dengan patogenitas tidak dapat diyakini. Fungsi tersebut telah digantikan oleh hasil koagulase, yang merupakan kriteria tunggal yang paling berguna untuk mengenali *Staphylococcus aureus* (Willet, 1992).

2.1.2. Karakteristik-karakteristik fenotipik

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram-positif, sel berbentuk bulat sempurna dengan diameter 1 μm , formasi *coccus* bergerombol seperti buah anggur (*cluster-forming coccus*), non motil, tidak membentuk spora, anaerob fakultatif, memfermentasi glukosa terutama asam laktat, katalase positif, koagulase positif, koloni berwarna kuning keemasan pada media umum. Ciri-ciri khas lain diantaranya β -hemolitik pada media BA, oksidase negative, dapat tumbuh pada temperature 15-45°C dan dalam media yang mengandung NaCl dengan konsentrasi hingga 15% (Todar, 2002).

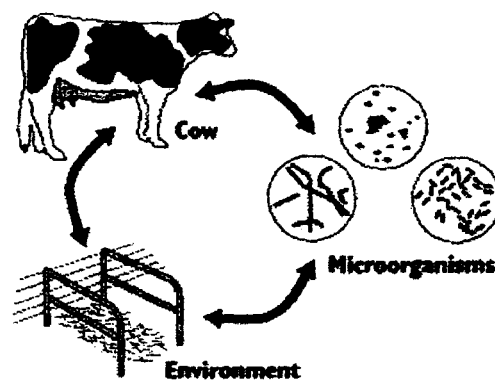
2.1.3. Predileksi

Staphylococcus aureus terutama terdapat pada ambing yang terinfeksi, kanal puting, dan lesi pada puting, bakteri ini ditemukan juga pada kulit puting, otot, nasal, dan vagina (Jones *et al.*, 1998). Selain itu, staphylococci tidak bertahan lama pada kulit puting yang sehat tetapi dengan segera membentuk koloni jika terdapat lesi di sekitar ujung puting kemudian masuk ke dalam

ambing. Meskipun prevalensi *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari ternak perah biasanya rendah, kebanyakan peneliti telah berhasil mengisolasi *Staphylococcus aureus* dari ternak perah (Roberson, 1999). Sedangkan Hajek dan Marsalek (1969) dalam Roberson (1999) menyatakan bahwa *Staphylococcus aureus* sering ditemukan pada kulit puting tanpa mengkontaminasi ke dalam susu.

2.1.4. Transmisi *Staphylococcus aureus* ke dalam ambing

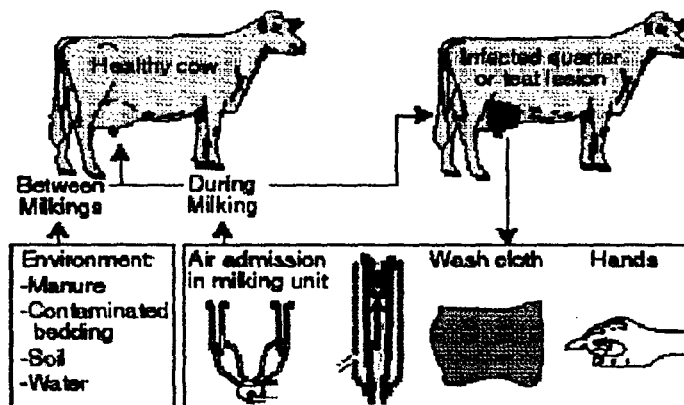
Schroeder (1997) berpendapat bahwa untuk mempermudah dalam memahami kompleksitas mastitis, harus disadari bahwa ada tiga faktor utama yang terlibat dalam penyakit ini, yaitu: mikroorganisme sebagai agen penyebab, sapi sebagai inang, dan lingkungan (Gambar 1).



Gambar 1. Tiga faktor utama yang terlibat dalam perkembangan penyakit mastitis (Schroeder, 1997).

Menurut Wattiaux (1996), bakteri ini biasanya menyebar dengan cara yang sama seperti *Streptococcus agalactiae*, yaitu hidup di luar dan di dalam kulit puting serta sering menyebabkan kasus mastitis klinis maupun subklinis. *Staphylococcus aureus* menyebar terutama ketika pemerahan melalui mesin pemerah, tangan pemerah yang terkontaminasi, dan bahan-bahan yang digunakan

untuk mencuci ambing (Gambar 2). Infeksi cenderung menyebabkan jaringan parut, menjadi kantung-kantung infeksi dalam ambing sehingga sulit dijangkau oleh antibiotika. Kantung-kantung tersebut dapat terbuka dan selanjutnya dapat menulari ke bagian ambing yang lain.



Gambar 2. Jalur utama dari transmisi bakteri (Wattiaux, 1996)

2.2. Mastitis

2.2.1. Definisi

Mastitis adalah suatu peradangan pada kelenjar ambing terutama disebabkan oleh invasi mikroorganisme patogenik melalui kanal puting (Erskine, 2001), serta merupakan penyakit yang paling umum dan paling mahal bagi peternakan sapi perah di seluruh dunia (Wattiaux, 1996).

2.2.2. Bentuk-bentuk mastitis

Morin dan Hurley (2002) serta Jones (1998) membagi mastitis ke dalam dua bentuk, yaitu:

1. Mastitis klinis: ditemukan ketidaknormalan pada susu yang tampak dari adanya gumpalan-gumpalan dan kuartir membengkak, merah, panas, sakit dan hilangnya fungsi termasuk penurunan produksi dan perubahan komposisi susu.

Mastitis bentuk klinis dibedakan lagi berdasarkan beratnya respon peradangan, diantaranya:

- a. Mastitis perakut: ditandai oleh serangan tiba-tiba, radang pada ambing yang hebat, dan susu mengandung cairan serous. Gejala sistemik ditandai dengan septisemia atau toksemia, demam, anoreksia, depresi, penurunan motilitas rumen, dan dehidrasi serta kadang-kadang menyebabkan kematian pada sapi.
- b. Mastitis akut: ditandai dengan serangan tiba-tiba, peradangan ambing sedang hingga berat, penurunan produksi, dan adanya cairan serous atau gumpalan fibrin. Gejala sistemik mirip dengan mastitis akut namun lebih ringan.
- c. Mastitis subakut: ditandai dengan peradangan ringan, meskipun tanpa adanya tanda-tanda perubahan pada ambing, namun biasanya terdapat gumpalan-gumpalan pada susu, dan susu dapat kehilangan warna. Tidak terdapat tanda-tanda sistemik pada mastitis bentuk ini.

- d. Mastitis kronis: dapat timbul dalam bentuk subklinis selama berbulan-bulan atau tahun dengan sesekali gejala-gejala klinis
2. Mastitis subklinis: merupakan bentuk mastitis yang paling umum (15-40 kali lebih sering terjadi dari pada bentuk klinis). Peradangan ambing tidak jelas dan tidak ada perubahan yang nyata pula pada susu (ambing dan susu tampak normal). Mastitis bentuk ini hanya ditandai dengan penurunan produksi dan kualitas susu serta peningkatan jumlah sel somatik (*Somatic Cell Count/SCC*).

2.2.3. Agen-agen mikrobial utama lain penyebab mastitis

Mastitis kebanyakan disebabkan oleh bakteri patogen dan terdapat tiga kategori bakteri patogen (Cassel, 1993), yaitu:

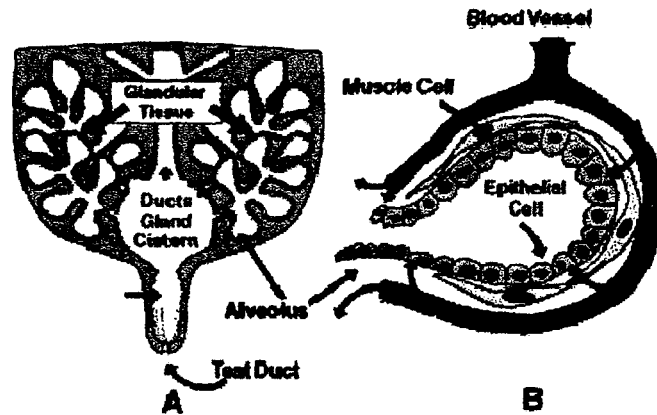
1. Patogen kontagius (*contagious pathogen*): sumber utamanya adalah kuarter yang terinfeksi, menyebar dari kuarter ke kuarter pada sapi yang sama atau dari sapi yang satu ke sapi yang lain oleh tangan yang terkontaminasi, alat-alat pemerahan, atau pemerahan yang kurang higienis. Contoh dari bakteri ini adalah *Staphylococcus aureus* (yang sedang dijelaskan pada makalah ini) dan *Streptococcus agalactiae*.
2. Patogen environmental (*enviromental pathogen*): sumber utamanya adalah lingkungan di mana sapi tersebut hidup, menyebar ke sapi melalui kontak langsung pada puting terhadap tempat berbaring, lumpur, kotoran, dan pupuk. Contoh dari bakteri ini adalah *Streptococcus uberi*, *Streptococcus dysgalactiae*, dan *Coliform sp.* misalnya *E. coli*.
3. Patogen minor (*minor pathogen*): organisme ini dipertimbangkan sebagai normal flora pada puting dan jarang menyebabkan penyakit klinis. Contoh

dari organisme ini adalah *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Corynebacterium bovis*.

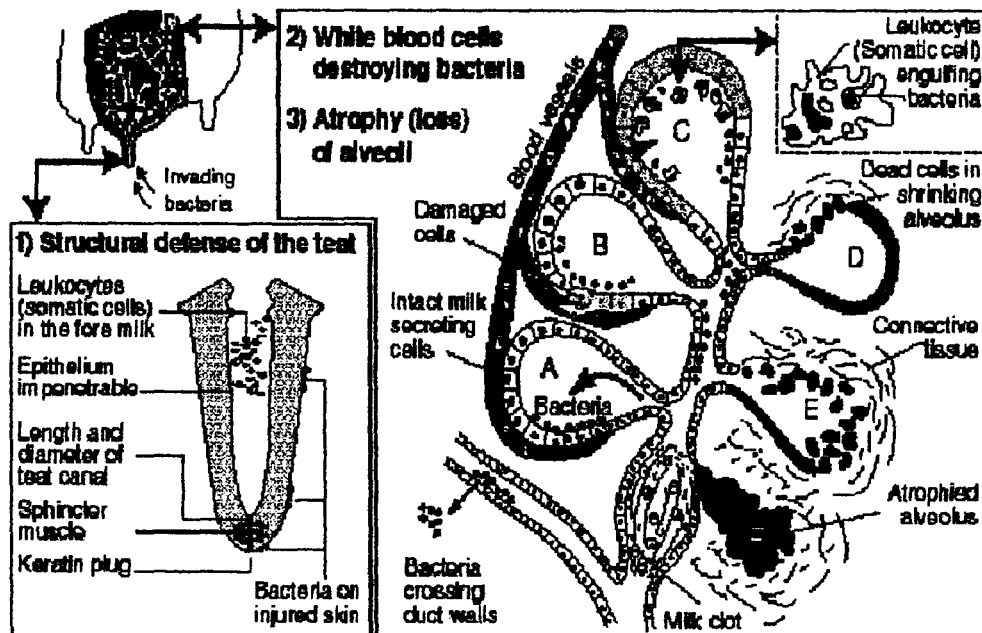
2.2.4. Patogenesis

Staphylococcus aureus menghasilkan toksin yang merusak membran sel dan secara langsung dapat merusak jaringan penghasil susu. Sel-sel darah putih (leukosit) tertarik kepada daerah peradangan di mana mereka mencoba untuk melawan infeksi. Pada awalnya, bakteri merusak lapisan-lapisan jaringan puting dan kelenjar sisterna dalam kuarter. Kemudian menuju ke sistem pembuluh dan membentuk kantung-kantung infeksi yang dalam pada alveoli. Diikuti oleh pembentukan jaringan parut dan abses, yang bertanggung jawab atas respon yang minim terhadap antibiotika yang. Alveolar dan sel-sel pembuluh dirusak dan mengurangi produksi susu. Sel-sel degenerasi ini bergabung dengan leukosit dan menyumbat saluran susu yang mengeringkan/mengosongkan area alveolar serta menambah pembentukan jaringan parut. Saluran-saluran tersebut dapat terbuka kembali dan melepaskan organisme-organisme *Staphylococcus aureus* menuju area-area lain pada kelenjar susu. Pada akhirnya, daerah tersebut menjadi luas dan dapat dikenali sebagai gumpalan-gumpalan dalam ambing (Jones *et al.*, 1998).

Berikut ini adalah gambar yang menunjukkan anatomi kelenjar ambing normal sebelum adanya invasi (Gambar 3) (Schroeder, 1997) dan gambaran di dalam ambing setelah adanya invasi *Staphylococcus aureus* (Gambar 4) (Wattiaux, 1996).



Gambar 3. Struktur kelenjar ambing menunjukkan puting dan kelenjar sistemna, saluran susu, dan jaringan glandular (A). Jaringan glandular tersusun atas kantung-kantung yang sangat kecil (mikroskopis) disebut alveoli yang dihubungkan oleh sel-sel epitel yang memproduksi susu (B). Terdapat jutaan alveoli dalam setiap kelenjar ambing (Schroeder, 1997).



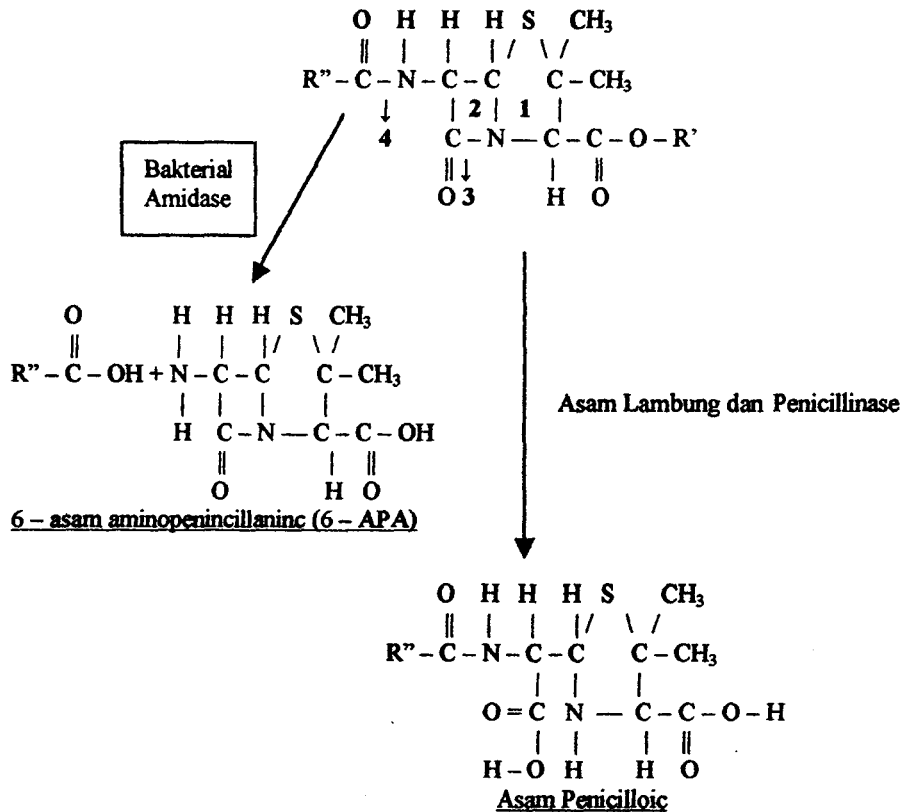
Gambar 4. Perkembangan mastitis dan pertahanan sapi terhadap infeksi: 1. pertahanan pada puting, 2. Sel-sel darah putih menghancurkan bakteri, 3. Alveoli mengalami atrofi (penegetilan) (Wattiaux, 1996).

2.3. Terapi Antibiotika

Antibiotika β -laktam telah digunakan dalam pengobatan veteriner dan kekebalan terhadapnya telah meluas. Pengobatan terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* sebelum tahun 1950 meliputi penggunaan penicillin-G, salah satu antibiotika β -laktam, namun di akhir tahun 50-an strain *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotika tersebut menambah kekhawatiran. Strain-strain yang resisten secara khusus memproduksi sebuah enzim, β -laktamase, yang menginaktifkan antibiotika β -laktam (Stapleton and Taylor, 2002). Antibiotika-antibiotika yang telah digunakan untuk terapi infeksi *Staphylococcus aureus* pada kelenjar mammae termasuk: penicillin, penicillin G, ampicillin (Gambar 6), nafcillin, cloxacillin, streptomycin, dan erythromycin (*A Review of Antimicrobial Resistance in the Food Chain*, 1998). Senyawa lain yang telah digunakan untuk terapi mastitis pada sapi diantaranya adalah rifamycin-SW (Yancey *et al.*, 1985). Namun, kebanyakan strain *Staphylococcus aureus* telah resisten terhadap penicillin, ampicillin, amoxicillin, lincomycin and streptomycin (Malinowski *et al.*, 2002). Resistensi diikuti oleh MRSA (*Methicillin resistant Staphylococcus aureus*) (Gambar 7) yang telah menyebar luas dan kebanyakan strain *methicillin-resistant* juga menunjukkan *multiple* resistensi terhadap antibiotika lain (Todar, 2002).

Penicillin merupakan antibiotika pertama yang digunakan untuk pengobatan mastitis di akhir tahun 1940an (Aarestrup and Jansen, 1998 dalam Teale *et al.*, 1999). Semua penicillin memiliki senyawa sulfur yang mengikat cincin thiazolidine (1), dihubungkan dengan cincin β -laktam (2), yang

menentukan aktifitas antibakterial, dan ujung rantai (R'') menentukan karakteristik masing-masing penicillin; bagian (*moiety*) R' merupakan tempat (*site*) formasi garam, khususnya sodium dan potasium. Tahap awal kerja penicillin terdiri atas pengikatan obat ke reseptor sel, dinamakan protein pengikat penicillin (*Penicillin Binding Protein/PBP*) yang berjumlah 3 – 8 dan beberapa diantaranya merupakan enzim transpeptidase. Setelah perlekatan, penicillin menghambat aktivitas berbagai enzim transpeptidase sehingga sintesis peptidoglikan dinding sel berlangsung tidak sempurna yang kemudian dilanjutkan dengan penghapusan atau peninaktifan penghambat enzim autolisis dalam sel (Katzung, 1987). Penicillinase, asam lambung, dan gugus amin primer dan sekunder menghidrolisis penicillin menjadi asam penicilloic dengan memecah cincin β -laktam (3), asam penicilloic tidak memiliki aktivitas antibakterial namun berpotensi menyebabkan alergi (Gambar 5) (Bevan *et al.*, 1983 and DiPalma *et al.*, 1990). Berikut ini adalah gambar yang menunjukkan struktur dasar penicillin beserta berbagai macam reaksi beserta hasilnya.



Gambar 5. Penicillin dan bermacam derivatnya. (1) cincin thiazolidine; (2) cincin β -laktam; (3) tempat (*site*) pemecahan cincin β -laktam oleh asam lambung dan penicillinase; (4) tempat pemecahan oleh amidase bacterial. R' = tempat formasi garam; R'' = ujung rantai tempat penentuan/pembuatan karakteristik penicillin secara individu (Bevan, 1983).

Modifikasi molekul penicillin mengambil tempat hanya pada ujung rantai *acyl* (R'') yang menentukan spektrum antimikrobia, kepekaan terhadap β -laktamase, dan farmakokinetiknya, sehingga penicillin terbagi ke dalam empat grup, yaitu (DiPalma *et al.*, 1990):

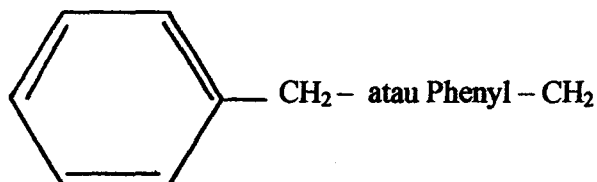
1. Penicillin dasar (*natural penicillin*), contohnya penicillin G.
2. Aminopenicillin, contohnya ampicillin.
3. Penicillin yang resisten terhadap penicillinase (*penicillinase-resistant penicillin/antistaphylococcal penicillin*), contohnya methicillin.

4. Penicillin spektrum yang diperluas (*extended-spectrum penicillin*), contohnya carbenicillin.

Sumber lain menyebutkan bahwa penicillin terbagi atas lima grup, grup yang kelima adalah penghambat β -laktamase (β -lactamase inhibitor), contohnya sulbactam (Coppoc, 1997). Tiga grup pertama adalah yang akan diterangkan selanjutnya.

- **Penicillin G (Benzylpenicillin)**

Penicillin G memiliki spektrum antimikrobia yang sempit, aktif melawan bakteri gram positif, didegradasi oleh asam lambung (*acid labile*) dan dirusak oleh β -laktamase yang merupakan *plasmid mediated* (Katzung, 1987 and DiPalma *et al.*, 1990).



Gambar 6. Struktur kimia dasar penicillin G (DiPalma, *et al.*, 1990 and Brown, 2001)

Pertama kali penicillin G diperkenalkan, staphylococci merupakan yang paling sensitive. Beberapa tahun kemudian, strain-strain yang resisten terhadap penicillin mengalami peningkatan. Saat ini kebanyakan strain *Staphylococcus aureus* dan staphylococci koagulase negative telah resisten terhadap penicillin G (DiPalma *et al.*, 1990).

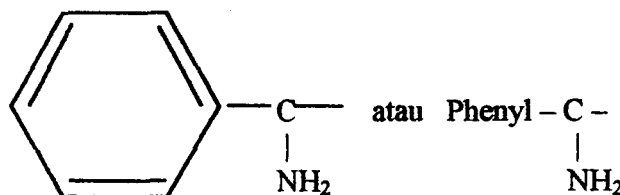
Farmakokinetik

Mekanisme aksi: Penicillin G harus menembus dinding sel untuk menempel ke protein spesifik pada membran sel bakteri. Dalam sel-sel yang sedang tumbuh aktif, pengikatan penicillin pada dinding sel menyebabkan gangguan produksi peptidoglikan dinding sel dan melisiskan rangkaian sel dalam suatu lingkungan yang hipo- atau iso-osmotik (Goodman *and* Gilman, 1975).

Distribusi: pengobatan yang diinfuskan melalui puting didistribusikan secara merata ke dalam kuartir dari ambing sehat; bagaimanapun, di dalam ambing yang terinfeksi mastitis distribusi obat tidak merata. Setelah prokain penicillin G diinfuskan ke dalam suatu kuartir, sebagian didistribusikan ke kuartir lain pada suatu ambing, ke dalam sirkulasi getah bening lokal, dan sebagian ke dalam plasma serta jaringan lain, 40% terikat protein (Goodman *and* Gilman, 1975).

- **Ampicillin (alfa-aminobenzylpenicillin)**

Serupa dengan penicillin G, ampicillin dirusak oleh β -laktamase yang juga *plasmid-mediated*, yang membedakannya adalah keberadaan gugus amino pada ujung rantai *acyl* (Gambar 7), stabil dalam asam dan lebih efektif terhadap bakteri gram negative (Katzung, 1987 *and* DePalma, 1990).



Gambar 7. Struktur kimia dasar ampicillin (DiPalma, *et al.*, 1990 *and* Brown, 2001)

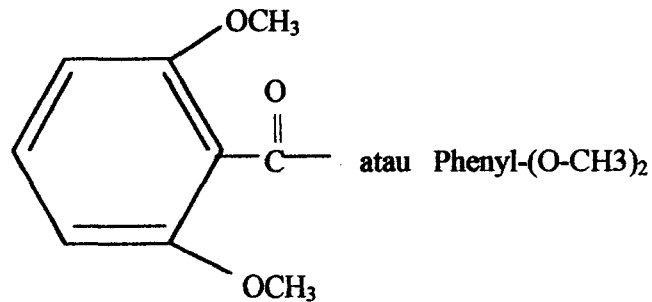
Farmakokinetik

Mekanisme aksi: Seperti penicillin lain, ampicillin menghasilkan efek bakterisidal dengan menghambat sintesis dinding sel. Antibiotika ini harus menembus dinding sel untuk menempel pada protein spesifik pada bakteri. Spektrum antimikrobia ampicillin mirip dengan penicillin G kecuali beberapa yang termasuk spesies gram negative, dengan menembus dinding sel bakteri gram negative lebih cepat dari pada penicillin natural, oleh karena itu lebih efisien dalam menghancurkan organisme tersebut (Goodman *and* Gilman, 1975).

Distribusi: Ampicillin stabil di dalam cairan lambung sehingga aman bila digunakan secara oral (Micromedex, 2003). Ampicillin merupakan penicillin yang paling sedikit mengikat protein (20%), diekskresikan oleh ginjal (75 – 80%) dalam bentuk aktif, sebagian kecil diinaktifkan terutama di hati, dan 2 – 3% diekskresikan tanpa perubahan bentuk di empedu (DiPalma, 1990).

- **Methicillin (dimetoksiphenylpenicillin)**

Methicillin (*chromosomal-mediated*) adalah penicillin semisintetis pertama yang resisten terhadap penicillinase yang berasal dari nukleus penicillin (6-APA). Antibiotika ini sangat aktif melawan baik *Staphylococcus aureus* yang sensitif atau resisten terhadap penicillin G maupun staphylococci koagulase negatif. Aktifitas lebih rendah dari pada penicillin G, tetapi resisten terhadap β -laktamase, dan labil terhadap asam (Katzung, 1987 *and* DePalma, 1990).



Gambar 8. Struktur kimia dasar methicillin (DiPalma, *et al.*, 1990 and Brown, 2001)

Farmakokinetik

Mekanisme aksi: Methicillin bersifat bakterisid bagi kebanyakan strain *Staphylococcus aureus*; strain-strain yang menghasilkan penicillinase 15 – 80 kali lebih sensitif terhadap methicillin dari pada penicillin G. Obat ini utamanya digunakan untuk infeksi yang disebabkan oleh penicillinase yang dihasilkan oleh strain *Staphylococcus aureus* yang tidak dapat disembuhkan oleh penicillin G, namun tidak seefektif penicillin G dalam melawan bakteri gram positif lain. Mekanisme kekebalan yang tepat terhadap methicillin belum sepenuhnya diketahui. Penggunaan hanya dengan cara parenteral (Goodman and Gilman, 1975).

Distribusi: Methicillin sulit menembus ke dalam cairan otak, namun dengan baik didistribusikan ke dalam beberapa cairan tubuh dan jaringan, diekskresikan dalam urin tanpa mengalami perubahan, hampir sama dengan penicillin G, 40% terikat protein (Goodman and Gilman, 1975).

- **Resistensi terhadap obat-obat antimikroba**

Jawetz et al., (1995) dan Case (1998) membagi mekanisme resistensi bakteri terhadap agen-agen kimiawi menjadi lima, yaitu:

1. Mikroorganisme memproduksi enzim yang merusak aktifitas obat. Perusakan atau penginaktifan obat oleh β -laktamase yang menghidrolisis ikatan amida dalam cincin β -laktam antibiotika-antibiotika penicillin, sedangkan cephalosporin memproduksi derivat-derivat *acidic* yang tidak dimiliki oleh antibakterial lain merupakan penentu utama resistensi bakteri-bakteri patogen terhadap antibiotika β -laktam (Medeiros, 1984).
2. Mikroorganisme mengubah permeabilitasnya terhadap obat, misalnya streptococci. Streptococci memiliki barrier permeabilitas alami terhadap aminoglycosides, yang sebagian mungkin terjadi karena kehadiran obat yang menghambat sintesis dinding sel secara serentak (penicillin).
3. Mikroorganisme mengubah target struktural terhadap obat. Resistensi terhadap beberapa penicillin dan cephalosporin bisa dikarenakan oleh perubahan atau hilangnya fungsi *penicillin-binding protein* (PBP).
4. Mikroorganisme mengubah jalur metabolik yang dilalui reaksi hambatan obat. Beberapa bakteri yang resisten terhadap sulfonamide tidak memiliki gen ekstraseluler, namun seperti sel mamalia, dapat menggunakan perubahan asam folat.
5. Mikroorganisme mengubah enzim yang masih dapat menunjukkan fungsi metaboliknya yang lebih efektif pada bakteri yang resisten daripada yang sensitif. Misalnya pada bakteri yang resisten terhadap trimethoprim, reduktase

asam dihidrofolik menghambat sedikit lebih efektif daripada bakteri yang sensitif.

• **Asal mula resistensi antibiotika (Saunders, 1984; Jawetz *et al.*, 1995 and Cimolai, 2001)**

Asal mula resistensi mikroorganisme terhadap antibiotika dapat dikarenakan dua faktor, yaitu:

1. Non genetik (resistensi natural/resistensi intrinsik)

Kebanyakan resistensi non genetik terjadi karena spesies mikroorganisme memiliki suatu target dengan mereduksi afinitas antibiotika, atau karena pencegahan terhadap antibiotika untuk mencapai target (*naturally-degrading enzyme*).

2. Genetik (resistensi perolehan)

Kebanyakan mikroorganisme yang resisten terhadap antibiotika merupakan hasil dari perubahan genetik. Resistensi genetik disebabkan oleh: resistensi kromosomal, resistensi ekstrakromosomal (plasmid), dan resistensi oleh transposon. Materi genetik dan plasmid tersebut dapat ditransfer melalui tiga mekanisme, yaitu (Saunders, 1984 *and* Jawetz, 1995):

a. Transduksi

Transduksi adalah transfer gen oleh partikel-partikel bakteriofage, yang hanya terjadi di antara bakteri donor dan penerima yang berbagi reseptor permukaan sel yang cocok untuk mentransduksi fage. Plasmid yang membawa gen untuk produksi β -laktamase dapat ditransfer dari *Staphylococcus aureus* yang

resisten terhadap penicillin kepada yang masih sensitif jika dibawa oleh bakteriofage yang sesuai.

b. Transformasi

Trasnformasi adalah proses yang mana bakteri mampu untuk mengambil DNA (*naked DNA*) dan digabungkan ke dalam genomnya. Proses ini berlangsung secara alamiah pada beberapa spesies namun harus diinduksi oleh perlakuan bakteri-bakteri lain, meliputi transport plasmid, bakteriofage, atau DNA kromosomal melewati amplop sel. Contoh dari bakteri-bakteri ini adalah *Haemophilus spp.*, *Neisseria spp.*, dan *Gonococci spp.*

c. Konjugasi

Konjugasi adalah suatu proses yang membutuhkan kontak antar sel di mana DNA ditransfer dari bakeri donor ke bakteri penerima atau suatu transfer materi genetik unilateral di antara bakteri yang sama atau berbeda genera yang terjadi ketika proses perkawinan (*mating*). Kebanyakan bakteri Gram negatif dan sedikit gram positif seperti streptococci, staphylococci, dan clostridia mampu untuk berkonjugasi.

d. Transposisi, transfer rangkaian DNA pendek (transposon, elemen transposable) yang terjadi antara suatu plasmid dan lainnya atau antara plsmid dan kromosom dalam sel bakteri.

Penggunaan antibiotika secara terus-menerus dalam penanganan penyakit pada hewan khususnya sapi perah (mastitis) menimbulkan kekhawtiran akan mengakibatkan sebuah reservoir bakteri resisten yang dapat ditransfer kepada

manusia melalui berbagai macam produk makanan (Bates *et al.*, 1994 dalam Tikofsky and Schukken, 2002). Kemungkinan terdapatnya residu dalam susu yang dihubungkan dengan pengobatan mastitis pada sapi perah menambah kekhawatiran karena sebagian masyarakat alergi terhadap susu dan produk susu yang mengandung antibiotika, sehingga susu yang dijual untuk dikonsumsi masyarakat seharusnya tidak mengandung antibiotika (Oliver, 2000).

BAB III
MATERI DAN METODE
PENELITIAN

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan September sampai dengan November 2003. Tempat pengambilan sampel di peternakan sapi perah Bendul Merisi, Jemur Sari, dan Wonocolo. Sedangkan untuk pemeriksaannya dilakukan di Laboratorium Higien Susu dan Daging Fakultas Kedokteran Hewan dan *Tropical Disease Research Center* (TDRC) Universitas Airlangga Surabaya.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Sampel penelitian

Sampel susu diuji sebanyak 108 sampel yang diambil dari 108 kuartir sapi perah sehat dari empat peternakan, dua di Bendul Merisi, Jemur Sari dan Wonocolo masing-masing satu peternakan.

3.2.2. Bahan penelitian:

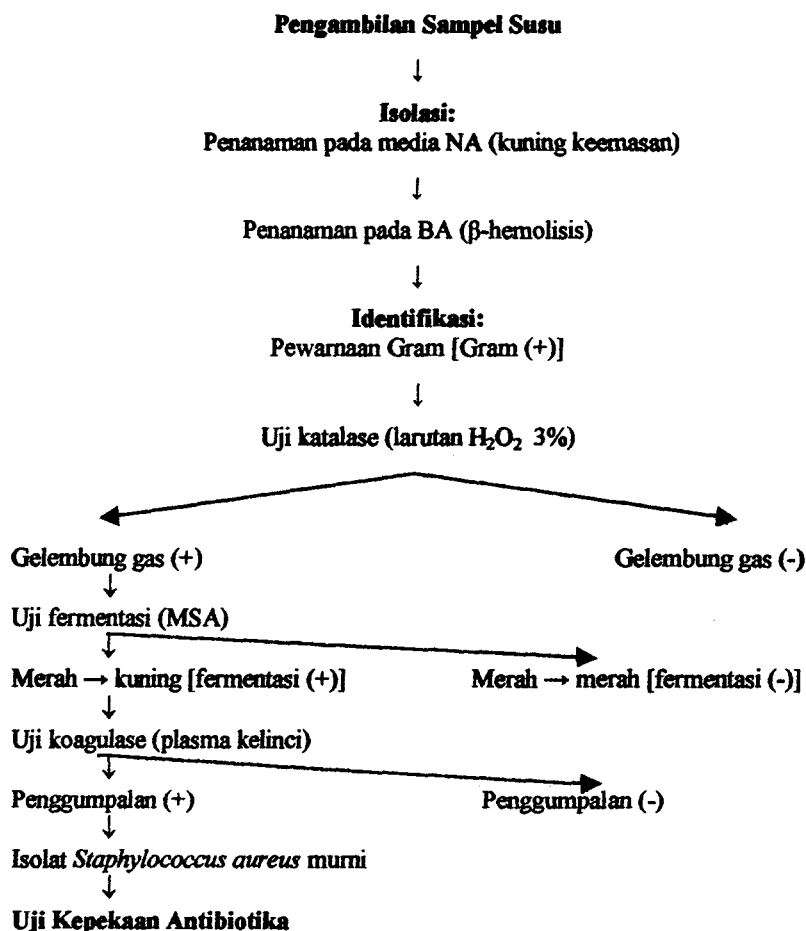
Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah susu sapi perah, media *Nutrient Agar* (NA), media *Blood Agar* (BA), bahan pewarnaan Gram, larutan H₂O₂ 3%, media *Mannitol Salt Agar* (MSA), plasma kelinci, media *Trypticase Soy Broth* (TSB), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), disk antibiotika: penicillin G(10 IU, Oxoid), ampicillin (10 µg, Oxoid), dan methicillin (5 µg, Oxoid).

3.2.3. Alat-alat penelitian:

Penelitian ini menggunakan alat-alat: ose dan needle, bunsen, tabung reaksi dan prop, rak tabung reaksi, petri disk, inkubator, vortex, mikropipet, gelas obyek, *cotton swab*, mikroskop.

3.3. Metode Penelitian

Berikut adalah gambar skematis tahapan isolasi dan identifikasi *Staphylococcus aureus* serta uji kepekaan terhadap beberapa antibiotika.



Gambar 9. Skema tahapan proses isolasi dan identifikasi *Staphylococcus aureus* dari sampel susu dan uji kepekaannya terhadap beberapa antibiotika (Staf Pengajar Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi, 2002).

Pengambilan sampel susu:

- Sampel susu diambil dari empat peternakan sapi perah di Bendul Merisi, Jemur Sari, dan Wonocolo, didapatkan 108 sampel susu yang berasal dari 108 kuartir/puting sapi sehat (secara fisik tidak tampak adanya kerusakan atau kelainan bentuk/cacat pada seluruh tubuh sapi khususnya kuartir dan susu). Sebelum pemerahan, puting susu dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol kemudian dicuci dengan air hangat agar terbebas dari kotoran. Sampel susu diambil setelah pancaran 1 sampai 2 kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik (Giovannini, 1998).
- Setiap sampel susu diberi nomor berdasarkan asal peternakan, nomor sapi dan nomor ambing. Satu kuartir/puting satu sampel susu meskipun berasal dari ambing sapi yang sama. Setiap kuartir diberi nomor, kuartir kiri depan diberi nomor 1, kanan depan nomor 2, kanan belakang nomor 3, dan kiri belakang nomor 4 (penomoran dapat berlainan tergantung pada peneliti masing-masing). Sebagai contoh sample susu yang berasal dari peternakan Bendul Merisi (diberi kode: A) pada sapi nomor 1 dan kuartir kiri depan, penomorannya menjadi A/01/01.

Isolasi dan identifikasi:

- Media NA

Sampel susu terlebih dahulu ditanam pada media NA kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pilihlah koloni-koloni yang berwarna kuning keemasan. *Staphylococcus aureus* tumbuh dengan warna kuning keemasan pada

media umum (Todar, 2002) (Gambar 9). Koloni diperbanyak untuk memperbanyak isolat agar dapat digunakan untuk pemeriksaan selanjutnya.

- Media BA

Media BA yang mengandung eritrosit domba adalah media yang dianjurkan untuk meminimalkan kontaminasi dari organisme lain (Boyd, 1995). Koloni-koloni yang berwarna kuning keemasan tersebut ditanam ke media BA. *Staphylococcus aureus* menghemolisis eritrosit domba pada BA, sedangkan *Staphylococcus epidermidis* tidak (Todar, 2002). Koloni organisme di *streak* pada media BA. Inkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Amati zona perubahan warna di sekitar koloni (Fox, 2000) (Gambar 10).

Staphylococcus aureus menghasilkan β -hemolisin, yang mana koloninya dikelilingi oleh zona bening (Lindquist, 2003).

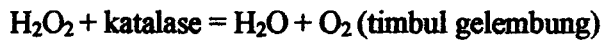
- Uji mikroskopis – pewarnaan Gram

Langkah pertama dalam pewarnaan Gram adalah meneteskan larutan *crystal violet* di atas spesimen yang telah difiksasi pada objek glass dan diamkan selama satu menit. Cucilah dengan air keran. Kemudian teteskan larutan iodin (menutupi seluruh permukaan spesimen) dan diamkan selama satu menit. Teteskan alkohol ke atasnya untuk melunturkan warna violet (*decolorization*). Struktur sel bakteri Gram positif mempertahankan warna violet ketika pencucian dengan alkohol. Pada bakteri Gram negatif, alkohol dengan mudah melewati dinding sel dan tidak kesulitan untuk membersihkan *crystal-iodine complex*. Dengan penambahan terakhir pada pewarnaan, safranin, bakteri Gram negatif

mengabsorpsi karakteristik warna merah dalam pewarnaan Gram (Anonimus, 1995; Hopkins *and* Waggoner, 2003) (Gambar 11).

- Uji katalase (Fox, 2000)

Digunakan untuk membedakan antara spesies *Staphylococcus* dengan *Streptococcus*. Dasar uji ini adalah:



Menggunakan *inoculating needle*, ambil sebuah koloni dan letakkan di atas *glass slide* bersih. Tambahkan setetes H_2O_2 di atas koloni. Amati timbulnya gelembung dengan segera (pelepasan gas).

Apabila dengan segera timbul gelembung-gelembung gas pada H_2O_2 3% maka dinyatakan positif *Staphylococcus* (Boyd, 1995) (Gambar 12).

- Uji fermentasi pada MSA (Fox, 2000)

MSA merupakan media selektif untuk menemukan staphylococci dari campuran kultur-kultur. Media ini mengambil keuntungan dari kemampuan staphylococci untuk tumbuh dalam media yang mengandung NaCl 7.5% dan kemampuan memfermentasi mannitol. Indikator pH (phenol red) terdapat dalam media. Warna media berubah dari merah muda tua menjadi kuning karena hasil fermentasi. Apabila bakteri dapat tumbuh dan terjadi fermentasi berarti hasil dinyatakan positif (Gambar 13).

Goreskan (*streak*) koloni kultur *Staphylococcus* pada MSA plate. Inkubasi pada suhu 37°C dan hasil dapat dilihat setelah 24 jam.

- Uji koagulase (Fox, 2000)

Uji yang didasarkan pada deteksi produksi enzim koagulase oleh spesies *Staphylococcus* digunakan untuk membedakan antara koagulase-negatif staphylococci dan *Staphylococcus aureus*. Koagulase dihasilkan secara ekstraseluler oleh bakteri dan bereaksi dengan *coagulase-reacting factor* yang terdapat pada plasma. Pembentukan gumpalan dalam plasma disebabkan oleh kompleks-kompleks yang terbentuk pada reaksi ini.

Suspensi kuman dibuat dengan memasukkan bakteri yang positif katalase ke dalam 0,1-0,5 ml media TSB dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam (*tube test*). Plasma kelinci ditambahkan ke dalam suspensi bakteri dengan jumlah sama banyak. Diamkan beberapa menit hingga beberapa jam. Hasil positif *Staphylococcus aureus* ditunjukkan dengan terdapatnya penggumpalan. Apabila setelah 24 jam tidak terjadi penggumpalan maka hasil dinyatakan Staphylococci koagulase negatif (*coagulase negative Staphylococci/CNS*) (Boyd, 1995) (Gambar 14).

Uji kepekaan terhadap antibiotika

Penentuan kepekaan antibiotika terhadap bakteri dilakukan dengan uji kepekaan antibiotika menggunakan metode agar disk difusi pada MHA (*Kirby-Bauer agar disk diffusion method*) dan hasilnya diinterpretasikan berdasarkan pada *National Committee for Clinical Laboratory Standard* (NCCLS). Antibiotika dipilih berdasarkan aktifitasnya terhadap *cocci* Gram positif termasuk penicillin G (10 IU, Oxoid), ampicillin (10 µg, Oxoid), methicillin (5 µg, Oxoid), dan

dengan cara menginokulasi bakteri yang positif *Staphylococcus aureus* (setelah dilakukan beberapa uji) ke dalam 1-2 ml media TSB lalu diinkubasi selama 2 jam. Kekeruhannya disetarakan dengan standard McFraland 0,5. Suspensi kuman di tanam pada media MHA secara *streak* dengan menggunakan *cotton swab* secara merata di seluruh permukaan agar. Kemudian disk-disk antibiotika di tempatkan di atas media MHA yang telah ditanam kuman dengan menggunakan pinset. Inkubasi selama 18 - 24 jam. Sebagai perbandingan, hasil ditempatkan ke dalam tiga kategori kualitatif yaitu sensitif, intermediate, dan resisten. Ukur diameter zona hambatan pertumbuhan bakteri oleh antibiotika dengan menggunakan mistar, jangka sorong, atau *automated zone readers* dan di bawah ini adalah tabel ukuran zona hambatan antibiotika terhadap *Staphylococcus aureus* berdasarkan NCCLS *Approved Standard M2-A7* (Gambar 15) (Cimolai, 2001 and IFU 33000, 2003).

Tabel 1. Zona hambatan antibiotika terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* berdasarkan NCCLS *Approved Standard M2-A7*. (The Oxoid Manual of Culture and Other Laboratory Services. 1982 and IFU 33000, 2003)

Antimicrobial Agent	Disc Code and Potency	Test Cultures (zone diameters in mm)		
		R ≤	I	S ≥
Ampicillin	10 µg	20	21 - 28	29
Methicillin	5 µg	9	10 - 13	14
Penicillin G	10 IU	20	21 - 28	29

Keterangan: R – resisten; I – intermediate; S – sensitif

3.4. Analisis Data

Data yang didapat ditabulasikan secara deskriptif.

BAB IV
HASIL PENELITIAN

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini, didapatkan tiga sampel positif (15%) mengandung *Staphylococcus aureus* dari peternakan A, yang mana 33.33% telah resisten terhadap penicillin G, terhadap ampicillin belum satupun yang resisten, sisanya pada tingkat *intermediate* (33.33%) dan sensitif (66.67%), serta terhadap methicillin 100% masih sensitif. Peternakan B menghasilkan 36.84% sampel yang positif, yang mana diantaranya 85.71% telah resisten terhadap penicillin G dan masing-masing 7.14% untuk *intermediate* dan sensitif. Peternakan C mendapatkan 20% sampel positif, 50% diantaranya telah resisten terhadap penicillin G, 25% *intermediate* terhadap ampicillin, dan sisanya masih sensitif terhadap methicillin. Hasil negatif ditemukan pada peternakan D yang tidak satupun sampel dari sapi-sapi pada peternakan tersebut mengandung *Staphylococcus aureus*. Lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2: Persentase jumlah sampel yang positif mengandung *Staphylococcus aureus* dan kepekaannya terhadap antibiotika.

No.	$\Sigma (+)$	%	Kepekaan terhadap antibiotika								
			Penicillin G			Ampicillin			Methicillin		
			R	I	S	R	I	S	R	I	S
A (20)	3	15	33.33	66.67	0	0	66.67	33.33	0	0	100
B (38)	14	36.84	85.71	7.14	7.14	85.71	14.29	0	0	0	100
C (20)	4	20	50	25	25	100	0	0	0	0	100
D (30)	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan: R – resisten; I – *intermediate*; S – sensitif

BAB V
PEMBAHASAN

BAB V

PEMBAHASAN

Penelitian ini menghasilkan 21 sampel susu dari total 108 sampel yang diujikan mengandung bakteri patogen *Staphylococcus aureus*, dari total angka tersebut 15% merupakan sampel yang berasal dari peternakan A (Bendul Merisi), 36.84% dari peternakan B (Wonocolo), dan 20% dari peternakan C (Jemur Sari). Sampel yang berasal dari peternakan D (Bendul Merisi) tidak menunjukkan adanya kontaminasi dari bakteri tersebut. Keputusan tersebut diambil berdasarkan pengujian-pengujian pada media selektif agar dapat mengisolasi serta membantu membedakannya dengan bakteri-bakteri lain yang terdapat di dalam susu. Isolasi dimulai dari media yang paling umum yaitu media NA hingga pengujian yang paling selektif yaitu uji koagulase dengan menggunakan plasma kelinci

Angka-angka tersebut tentu saja cukup menimbulkan kekhawatiran karena hampir seperlima sampel mengandung *Staphylococcus aureus*, bakteri patogen penyebab timbulnya mastitis terbesar kedua di dunia setelah *Streptococcus agalactiae*. Keadaan yang memprihatinkan diperlihatkan oleh peternakan A, B, dan C. Hal itu juga menunjukkan betapa kurangnya kesadaran akan pentingnya memperhatikan kebersihan pada proses pemerahan. Para pemerah tidak menggunakan sarung tangan (*gloves*) dan hanya menggunakan air untuk membersihkan ambing dan puting ketika akan pemerah sehingga kuman-kuman khususnya *Staphylococcus aureus* yang terdapat pada permukaan kulit puting dan tangan pemerah tidak mati bahkan dapat masuk ke dalam ambing ketika proses

pemerahan berlangsung. Angka tersebut dapat bertambah sewaktu-waktu apabila tidak dilakukan tindakan perbaikan proses pemerahan, akibatnya penyebaran *Staphylococcus aureus* pada peternakan sapi perah tidak dapat dikurangi dan dicegah sehingga berpotensi untuk timbulnya penyakit mastitis baik klinis maupun subklinis. Meskipun angka tersebut masih terbilang rendah dibandingkan dengan beberapa penelitian yang telah dilakukan di beberapa negara, tetap menimbulkan resiko mengingat sampel yang digunakan adalah susu yang berasal dari sapi perah yang sehat. Sedangkan beberapa penelitian sebelumnya menggunakan sampel yang terinfeksi mastitis. Sekedar perbandingan, survei di Irlandia dari tahun 1984 – 1989 menunjukkan bahwa 61% bakteri patogen yang ditemukan pada sapi perah mastitis adalah *Staphylococcus aureus* (Meaney, 1993 dalam *Report of the Irish Medicines Board to The Minister for Agriculture & Food on the availability of Intramammary Products*, 1999). Tahun 2000–2001 di East Tennessee, Amerika 48.3% sampel susu (*bulk tank milk*) terkontaminasi *Staphylococcus aureus* (Murinda *et al.*, 2001). Pada peternakan D, hasil 0% kemungkinan besar disebabkan karena tetap terjaga kebersihan baik si pemerah maupun sapi-sapinya ketika proses pemerahan. Namun hal itu tidak boleh membuat peternak lengah, sebaliknya harus benar-benar dibuktikan kembali dengan pemeriksaan ulang secara rutin untuk membuktikan apakah ambing sapi-sapi pada peternakan D benar-benar bebas dari bakteri *Staphylococcus aureus*. Kemungkinan lain adalah sapi-sapi dari peternakan tersebut dalam waktu dekat telah diberi perlakuan antibiotika sebelum susunya diambil untuk dijadikan sampel penelitian.

Penentuan tingkat aktifitas bakteri terhadap antibiotika digunakan uji kepekaan antibiotika melalui metode agar disk diffusi dan hasilnya diinterpretasikan berdasarkan *National Committee for Clinical Laboratory Standard* (NCCLS) (Tikofsky and Schukken, 2002). Sampel yang positif diuji kepekaannya terhadap antibiotika yang aktif melawan *Staphylococcus aureus* yaitu antibiotika yang mengandung cincin β -laktam diantaranya penicillin G, ampicillin, dan methicillin. Peternakan A menghasilkan angka 33.33% untuk sampel yang resisten terhadap penicillin G, pada peternakan B didapatkan 85.71% telah resisten terhadap penicillin G dan ampicillin, sedangkan di peternakan C sebanyak 50% sampel telah resisten terhadap penicillin G dan seluruhnya telah resisten ampicillin. Berdasarkan data tersebut, dapat dilihat bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* telah resisten terhadap penicillin G terutama dengan angka yang cukup mengkhawatirkan pada peternakan B dan peternakan C, sedangkan di peternakan A menunjukkan angka yang berpotensi mengalami peningkatan resistensi terhadap penicillin G. Hal tersebut bisa disebabkan karena seringnya penggunaan kedua antibiotika tersebut baik untuk pencegahan dan pengobatan penyakit, maupun untuk pemicu pertumbuhan. Selain untuk mastitis, penggunaan antibiotika untuk kasus-kasus lain dapat membantu peningkatan resistensi bakteri karena distribusinya yang cukup luas termasuk cairan tubuh (Goodman and Gilman, 1975; Jawetz *et al.*, 1995). Misalnya resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap ampicillin yang sangat tinggi yaitu 85.71% pada peternakan B dan 100% pada peternakan C. Ampicillin mungkin sering digunakan untuk terapi kasus-kasus pencernaan yang disebabkan oleh mikroba lain sehingga mikroba tersebut

menjadi resisten. *Staphylococcus aureus* turut menjadi resisten kemungkinan besar dikarenakan faktor genetic yaitu transduksi yang dilakukan oleh bakteriofage yang menginfeksi bakteri resisten kemudian menularkan ke bakteri yang masih sensitive (*Staphylococcus aureus*) sehingga menjadi resisten. Kemungkinan lain adalah pemindahan resistensi yang dilakukan oleh transposon yang dibawa oleh R-plasmid. Transposon dapat bereplikasi dan mentransfer salinan gennya kepada elemen-elemen genetic lainnya (plasmid lain, DNA kromosom) sehingga menyebabkan bakteri dengan cepat menjadi resisten terhadap antibiotika melalui proses konjugasi (*resistance transfer factor/RTF*). R-plasmid dapat ditransfer dari bakteri lain karena konjugasi dapat terjadi baik antara spesies yang sama maupun spesies yang berbeda. Ketika antibiotika seperti golongan penicillin digunakan oleh individu dalam waktu yang lama, terdapat proses seleksi yang menyebabkan pertumbuhan strain-strain yang resisten terhadap antibiotika (Boyd, 1991). Namun, meskipun di suatu peternakan didapati tidak atau jarang menggunakan ampicillin dan *Staphylococcus aureus* yang ditemukan resisten terhadap obat tersebut, dirasakan cukup wajar mengingat aktifitasnya yang lemah terhadap bakteri tersebut. Aktifitas ampicillin lebih besar terhadap bakteri Gram negatif.

Peternakan B dan C harus segera melakukan perbaikan dalam penggunaan antibiotika-antibiotika terhadap ternaknya. Begitu pula pada peternakan A, meskipun angka resistensi belum terlalu tinggi dibandingkan peternakan lain, namun beberapa sampel susunya mengandung *Staphylococcus aureus* yang hampir resisten (*intermediate*). Meminimalisasi bahkan menghentikan

penggunaan antibiotika adalah yang terpenting, selain untuk mengurangi resiko peningkatan resistensi juga dapat mengurangi atau mencegah penumpukkan residu pada susu. Makin sering suatu ternak diberi antibiotika kecenderungan resistensi bakteri makin meningkat pula sehingga bukan kesembuhan yang diperoleh, melainkan makin menumpuknya residu antibiotika yang telah digunakan (Mellenberger, 1996). Residu antibiotika sangat berbahaya dan dapat berakibat negatif bila seseorang atau individu mengkonsumsi susu yang masih mengandung antibiotika. Antibiotika golongan penicillin dapat menyebabkan reaksi alergi/hipersensitifitas dan sensitisasi meskipun kasus yang dilaporkan masih sedikit. Reaksi alergi dapat berupa reaksi *anaphylactic shock*, reaksi *typical serum sickness* (urtikaria, bengkak-bengkak di kulit, pruritus), berbagai jenis *skin rash*, demam, nefritis, eosinofilia, diare, dan vaskulitis (Goodman and Gilman, 1975; Jawetz *et al.*, 1995).

Penelitian kali ini tidak menemukan strain *Methicillin Resistance Staphylococcus aureus* atau dikenal dengan sebutan MRSA. Hasil tersebut tidak mengherankan karena strain MRSA memang jarang ditemukan dan Indonesia belum menjadi daerah endemi MRSA. Hal serupa ditemukan pada studi di Tasmania tahun 1992 – 1993 di mana 49% isolat dari sampel susu resisten terhadap penicillin dan tak satupun resisten terhadap methicillin dan Barton di Australia tahun 1993 – 1994 menemukan bahwa 54% isolat dari sampel susu resisten terhadap penicillin dan tak satupun sampel yang resisten terhadap methicillin. Berbeda tipis dengan penelitian di Finlandia tahun 1998 di mana hanya 0.4% *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap methicillin

(Anonimus^a, 1999). Sedangkan di Polandia 66.7% strain *Staphylococcus aureus* dari kasus mastitis sub klinis telah resisten terhadap penicillin dan 68.9% resisten terhadap ampicillin dan pada kasus klinis 63.9% resisten terhadap penicillin sedangkan terhadap ampicillin 54.5% (Malinowski *et al.*, 2002). Di Chilli, 28.8% strain bakteri tersebut yang diisolat dari sapi yang mederita mastitis klinis resisten terhadap penicillin dan 26% resisten terhadap ampicillin (Martin *et al.*, 2002).

Tingginya angka resistensi terhadap penicillin G dan ampicillin yang ditunjukkan pada penelitian ini menunjukkan adanya kemungkinan bahwa antibiotika tersebut banyak digunakan oleh peternakan sapi perah tersebut baik untuk pengobatan maupun untuk pencegahan terhadap penyakit. Peternakan sapi perah konvensional biasanya menggunakan antibiotika sebagai pemicu pertumbuhan (*milk replacers*), pengobatan rutin (misalnya mastitis), serta profilaksis yang tentu saja kontras dengan peternakan sapi perah bersertifikat di mana antibiotika digunakan hanya untuk penyakit-penyakit yang jarang terjadi (khusus) dan waktu paruh antibiotika benar-benar diperhatikan secara ekstensif (Tikofsky *and* Schukken, 2002).

Perbedaan tipis terhadap penelitian yang dilakukan sebelumnya di beberapa negara juga menunjukkan bahwa begitu luasnya penggunaan antibiotika terutama penicillin dan ampicillin terhadap sapi perah. Apalagi pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah susu sehat yang berasal dari sapi perah yang sehat pula. Juru bicara untuk *National Institutes of Health* menyalahkan penggunaan profilaksis yang tidak perlu, penggunaan antibiotika dalam pakan hewan, dan

tersedianya antibiotika-antibiotika *over-the-counter* di sejumlah negara, serta penyalahgunaan obat oleh ahli-ahli kesehatan (Case, 1998).

BAB VI
KESIMPULAN SARAN

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Sampel di peternakan A (Bendul Merisi) 15% mengandung bakteri *Staphylococcus aureus* dan telah resisten terhadap penicillin G sebesar 33.33%. Resistensi terhadap antibiotika ampicillin dan methicillin adalah 0%.
2. Sampel di peternakan B (Jemur Sari) 36.84% mengandung bakteri *Staphylococcus aureus*, telah resisten terhadap penicillin G dan ampicillin masing-masing sebesar 85.71%. Resistensi terhadap methicillin adalah 0%.
3. Sampel di peternakan C (Wonocolo) 20% mengandung bakteri *Staphylococcus aureus*, telah resisten terhadap penicillin G sebesar 50% dan terhadap ampicillin sebesar 100%. Resistensi terhadap methicillin adalah 0%.
4. Sampel di peternakan D (Bendul Merisi) seluruhnya tidak ditemukan bakteri *Staphylococcus aureus*.
5. Strain MRSA tidak ditemukan pada penelitian ini (0%).

6.2. Saran

1. Peternak-peternak sapi perah Surabaya khususnya di daerah Bendul Merisi, Jemur Sari, dan Wonocolo diharapkan agar selalu memeriksakan susu perahannya secara rutin ke laboratorium agar dapat mengetahui kandungan mikroba (*Staphylococcus aureus*) didalamnya sehingga hasilnya dapat dijadikan data dasar untuk penanganan mastitis.
2. Pemeriksaan kepekaan beberapa antibiotika terhadap *Staphylococcus aureus* dalam susu dapat digunakan sebagai sarana penentu antibiotika mana yang masih bisa dan aman digunakan untuk pengobatan penyakit khususnya mastitis maupun penyakit lainnya (*drug of choice*).
3. Penggunaan antibiotika untuk pencegahan penyakit atau profilaksis dan pemicu pertumbuhan ternak sebaiknya dihindari untuk mencegah dan mengurangi timbulnya resistensi bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotika dan penumpukkan residu dalam susu.

RINGKASAN

SRI REZEKI. Prevalensi *Staphylococcus aureus* pada Susu yang Berasal dari Ambing Sapi Perah Sehat di Surabaya dan Kepekaannya terhadap Beberapa Antibiotika (di bawah bimbingan Bapak Tjuk Imam Restiadi sebagai pembimbing pertama dan Bapak Benjamin Tehupuring sebagai pembimbing kedua).

Studi ini bertujuan untuk mengetahui besarnya angka prevalensi *Staphylococcus aureus* pada susu di beberapa peternakan Surabaya dan untuk mengetahui kepekaan antibiotika yang secara umum digunakan untuk melawan *Staphylococcus aureus* sebagai penyebab mastitis. Sampel susu sebanyak 108 buah didapatkan dari 108 kuartir sapi perah sehat di empat peternakan sapi perah Bendul Merisi (20 dan 30 sampel), Jemur Sari (38 sampel), dan Wonocolo (20 sampel). Setiap sampel dibedakan berdasarkan tiap peternakan, nomor sapi, dan nomor kuartirnya. Hasil pemeriksaan didapatkan setelah pengisolasian dan pengujian bakteri *Staphylococcus aureus* dari sampel susu kemudian diuji kepekaannya terhadap antibiotika penicillin G, ampicillin, dan methicillin (*Kirby-Bauer Agar Disk Diffusion Method*) dan hasilnya diinterpretasikan berdasarkan rekomendasi dari NCCLS *Approved Standard*.

Prevalensi *Staphylococcus aureus* yang didapat pada penelitian ini adalah sebesar 15% untuk peternakan A, 36.84% untuk peternakan B, 20% untuk peternakan C, dan 0% untuk peternakan D. Hasil dari uji kepekaan adalah 33.33% sampel A resisten terhadap penicillin G, 85.71% sampel B resisten masing-masing terhadap penicillin dan ampicillin, 50% sampel C resisten terhadap penicillin G

dan 100% terhadap ampicillin. Sedangkan terhadap methicillin 100% masih sensitif. Angka tersebut cukup beresiko mengingat sampel yang digunakan berasal hewan yang sehat. Perlu dilakukan tindakan pencegahan untuk mengatasi penyebaran bakteri tersebut dan pengontrolan penggunaan antibiotika oleh ahli-ahli kesehatan hewan khususnya hewan ternak.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 1995. **Introduction To Clinical Microbiology: Gram-staining Procedure.**
(<http://medic.med.uth.tmc.edu/path/grampro.htm>)
- Bevan, J. A. and J. H. Thompson. 1983. **Essential of Pharmacology 5th Edition.** Harper and Row Publishers, p. 577 – 587.
- Berry, E. A., 2001. **Survey of Antibiotic Sensitivity of *Staphylococcus aureus* Strains from Two Herds.** Proceedings of the British Mastitis Conference Garstrang,
- Biology et Recherche. 2001. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd Edition.**
(www.1223bio.net)
- Bird, R. F. 1995. **Basic Medical Microbiology 5th Edition.** Little, Brown and Company (Inc.), p. 246-251.
- Brown, J. C. 2001. **What the Heck is Penicillin?** KU Microbiology.
(<http://people.ku.edu/~jbrown/penicillin.html>)
- Buzalski, T. H. and P. Huovinen. 1999. **Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents in Finland.** FINRES, p. 1.
(<http://www.mmm.fi/julkaisut/Kokojulk/esitteet/antieng.pdf>)
- Case, C. L. 1998. **Discover a New Antibiotic.** Presented at Strategies for Success Workshop.
(<http://www.smccd.net/accounts/case/antibiotics6.html>)
- Cassel, E. K. 1993. **Mastitis Control: Reducing Somatic Cell Count.** SDSU Dairy Science Department.
(<http://extfcs.sdstate.edu/foodsafety/new%20fs%20website/Producer%20Publications/Mastitis.htm>)
- Cimolai, N. 2001. **Laboratory Diagnosis of Bacterial Infections.** Marcel Dekker, Inc., p. 147-249.
- Coppoc, L. G. 1997. **Penicillin Derivatives.** Purdue Research Foundation.
(www.penicillinderivatives.com)
- DiPalma, J. R. and G. J. DiGregorio. 1990. **Basic Pharmacology inn Medicine 3rd Edition.** McGraw-Hill, Inc, p. 579-592.

- Fox, M. T. 2000. **Identification of Gram Positive Bacteria: Normal Flora Staphylococci**. Microbiology Course Schedule.
(<http://web.indstate.edu/theme/micro/schedule.html>)
- Giovannini. 1998. **Important of Milk Hygiene to Public Health**. Report of MZCP/ Workshop on the Management of Milkborne Zoonosis Surveillance and Control in the MZCP Counters.
(www.mzcp-zoonoses.gr/documents/milkborn.pdf)
- Goodman, L. S. and A. Gilman. 1975. **The Pharmacological**. MacMillan Publishing Co., Inc., p. 1090-1158.
- Heritage, J. 2002. **The Classification and Identification of Bacteria of Medical Importance. The Gram Positive Cocci: Staphylococci**. Division of Microbiology Teaching Page.
(<http://www.bmb.leeds.ac.uk/mbiology/ug/ugteach/icu8/classification/head.html>)
- IFU33000. 2003. **Antimicrobial Susceptibility Disks TL**.
(www.remelinc.com/IFUs/IFU33000.pdf)
- Hopkins C. and G. Waggoner, 2003. **Identification of Two Unknown Microorganisms**. Unknown Mixture #44.
- Jawetz, E., J. L. Melnick, E. A. Adelberg. 1995. **Medical Microbiology 20th Edition**. Appleton and Lange, p. 137-166.
- Jones, G. M., T. L. Bailey, Jr., and J. R. Roberson. 1998. **Mastitis: Cause, Detection, and Control**. Dairy Science Publication, p. 229-404.
- Kahl, B. C., G. Belling, R. Reichelt, M. Herrmann, R. A. Proctor, and G. Peters. 2003. **Thymidine-dependent Small-Colony Variants of *Staphylococcus aureus* Exhibit Gross Morphology and Ultrastructural Changes Consistent with Impaired Cell Separation**. Journal of Clinical Microbiology, p. 410-413.
- Katzung, B. G. 1987. **Basic and Clinical Pharmacology 3rd Edition**. Appleton and Lange Publishing, p. 607-623.
- Lindquist, J. 2003. **Hemolytic Reactions & CAMP Test**. Bacteriology at UW-Madison.
(<http://www.jlindquist.net/generalmicro/dfhemo.html>)
- Lowy, F. D. 2003. **Antimicrobial Resistance: The Example of *Staphylococcus aureus***. Journal Clinical Investigation, 111 (9): 1265-1237.

- Malinowski, E., A. Klossowska, M. Kaczmarowski, H. Lassa, and K. Kuzma. 2002. **Antimicrobial Susceptibility of Staphylococci Isolated from Affected with Mastitis Cows.** Bulletin Veterinary Institute Pulawy 46, p. 289-294.
- Medeiros, A. A. 1984. **Antibiotic resistance in Bacteria: β -Lactamases.** British Medical Buletin, Vol. 40, No. 1, p. 18-27.
- Mellenberger, R. 1996. **Clinical Mastitis Therapy without Antibiotics.** Michigan Dairy Review Vol. 1 No. 2, p. 1-2.
- Murinda, S. E., L. T. Nguyen, S. J. Ivey, R. A. Almeida, B. E. Gillespie, M. J. Montgomery, F. A. Draughon and S. P. Oliver. 2002. **Isolation of Mastitis and Food-borne Pathogens in Bulk Tank Milk and Fecal Samples from Cull Dairy Cows.** Food Safety Center of Excellence, p. 1-3.
- Oliver, S. P. 2000. **Mastitis in Heifers: Prevalence, Strategy for Control During the Periparturient Period, and Economic Implications.** Proc. British Mastitis Conf. Shepton Mallet, p1-13.
- Quinn, P. J. and M. M. E. Carter. 2002. **Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Chapter I: Microbial Pathogens and Infectious Disease.** A Blackwell Publishing Company.
- Report of the Irish Medicines Board to the Minister for Agriculture & Food on the Viability of Intramammry Products.** 1999.
(www.imb.ie/uploads/publications/7891636_intrammary.pdf)
- Roberson, J. R. 1999. **The Epidemiology of *Staphylococcus aureus* in Dairy Farms.** National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings, p. 38.
- San Martin, B., J. Kruze, M. A. Morales, H. Agüero, D. Iragüen, S. Espinoza, B. León, and C. Borie. 2000-2002. **Antimicrobial Resistance in Bacteria Isolated from Dairy in Chile.** The Journal of Applied Research in Veterinary Medicine.
- Saunders, J. R. 1984. **Genetics and Evolutions of Antibiotic Resistance.** British Medical Bulletin Vol. 40, No. 1, p. 54-60.
- Schroeder, J. W. 1997. **Mastitis Control Programs: Bovine Mastitis and Milking Management.** NDSU Extentsion Service.
(<http://www.ag.nndsu.nodak.edu/>)

- Staf Pengajar Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi. 2002. **Petunjuk Praktikum Ilmu Penyakit Bakterial**. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, p. 1-36.
- Stapleton, P. D. and P. W. Taylor. 2002. **Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*: Mechanism and Modulation**. Science Progress, 85 (1),57 –72.
- Teale, C. J. and G. P. David. 1999. **Antibiotic Resistance in Mastitis Bacteria**. Proceeding of the British Mastitis Conference, p. 24-29.
- The Oxoid Manual of Culture Media, Ingredients and other Laboratory Services. 1982. **Oxoid Limited 5th Edition**. Turner Graphic Ltd.
- Tikofsky, L. L. and Y. H. Schukken. 2002. **A Comparison of Antibiotic Susceptibility Testing for *Staphylococcus aureus* in Organic and Conventional Dairy Herds**. Organic Farming Research Project Report, p. 2-13.
- Todar, K. 2002. ***Staphylococcus***. Bacteriology at UW-Madison. (<http://www.bact.wisc.edu/bact330/lecturestaph>)
- Wattiaux, M. A. 1996. **Mastitis: The Disease and Its Transmission**. Babcock Institute for International Dairy Research and Development. (<http://www.babcock.cals.wisc.edu/>)
- Willet, H. P. 1992. **Zinsser Microbiology 20nd Edition: *Staphylococcus***. Appleton and Lange Publishing, p. 401-402.
- Yancey, R. J., M. L. Kinney, and C. W. Ford. 1985. **Efficacy of Lincosamide Antibiotics in the Treatment of Experimental Staphylococcal Mastitis in Lactating Mice**. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Vol. 15, 219-232.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel data hasil isolasi dan identifikasi dari beberapa peternakan.

Tabel 3. Data hasil isolasi dan identifikasi dari peternakan A.

No.	Nomor Sampel Susu	Isolasi pada NA	Isolasi pada BA (hemolisis)	Pewarnaan Gram	Uji Katalase (H ₂ O ₂ 3%)	Uji Fermentasi (MSA)	Uji Koagulase
1.	A/01/01	+	+	+	+	+	+
2.	A/01/02	+	+	+	+	+	+
3.	A/02/01	+	-	-	-	-	-
4.	A/02/02	-	-	-	-	-	-
5.	A/03/01	+	+	-	-	-	-
6.	A/03/02	+	-	-	-	-	-
7.	A/04/01	+	-	-	-	-	-
8.	A/04/02	+	-	-	-	-	-
9.	A/05/01	+	-	-	-	-	-
10.	A/05/02	-	-	-	-	-	-
11.	A/06/01	-	-	-	-	-	-
12.	A/06/02	+	-	-	-	-	-
13.	A/07/01	+	+	-	-	-	-
14.	A/07/02	-	-	-	-	-	-
15.	A/08/01	+	-	-	-	-	-
16.	A/08/02	-	-	-	-	-	-
17.	A/09/01	-	-	-	-	-	-
18.	A/09/02	+	+	+	+	+	+
19.	A/10/01	-	-	-	-	-	-
20.	A/10/02	-	-	-	-	-	-
Σ							3 (15%)

Tabel 4. Data hasil isolasi dan identifikasi dari peternakan B.

No.	Nomor Sampel Susu	Isolasi pada NA	Isolasi pada BA (hemolisis)	Pewarnaan Gram	Uji Katalase (H ₂ O ₂ 3%)	Uji Fermentasi (MSA)	Uji Koagulase
1.	B/01/01	+	+	-	-	-	-
2.	B/01/02	+	-	-	-	-	-
3.	B/01/03	+	+	-	-	-	-
4.	B/01/04	-	-	-	-	-	-
5.	B/02/01	-	-	-	-	-	-
6.	B/02/02	-	-	-	-	-	-
7.	B/02/03	+	+	+	+	+	+
8.	B/02/04	-	-	-	-	-	-
9.	B/03/01	+	+	+	+	+	+
10.	B/03/02	+	-	-	-	-	-
11.	B/03/03	+	+	-	-	-	-
12.	B/03/04	+	+	-	-	-	-
13.	B/04/01	+	+	-	-	-	-
14.	B/04/02	+	+	+	+	+	+
15.	B/04/03	+	+	-	-	-	-
16.	B/04/04	+	+	+	+	+	+
17.	B/05/01	+	+	+	+	+	+
18.	B/05/02	+	+	-	-	-	-
19.	B/05/03	+	-	-	-	-	-
20.	B/05/04	+	+	+	+	+	+
21.	B/06/01	+	+	+	+	+	+
22.	B/06/02	+	+	+	+	+	+
23.	B/06/03	+	+	-	-	-	-
24.	B/06/04	+	+	-	-	-	-
25.	B/07/01	+	+	+	+	+	+
26.	B/07/02	+	+	+	+	+	+
27.	B/07/03	+	+	+	+	+	+
28.	B/07/04	+	+	+	+	+	+
29.	B/08/01	-	-	-	-	-	-
30.	B/08/02	+	+	-	-	-	-
31.	B/08/03	+	+	+	+	+	+
32.	B/08/04	+	+	+	+	+	+
33.	B/09/01	-	-	-	-	-	-
34.	B/09/02	-	-	-	-	-	-
35.	B/09/03	-	-	-	-	-	-
36.	B/09/04	-	-	-	-	-	-
37.	B/10/01	-	-	-	-	-	-

38.	B/10/02	-	-	-	-	-	-
Σ							14 (36.84%)

Tabel 5. Data hasil isolasi dan identifikasi dari peternakan C.

No.	Nomor Sampel Susu	Isolasi pada NA	Isolasi pada BA (hemolisis)	Pewarnaan Gram	Uji Katalase (H ₂ O ₂ 3%)	Uji Fermentasi (MSA)	Uji Koagulase
1.	C/01/01	+	+	-	-	-	-
2.	C/02/01	+	+	-	-	-	-
3.	C/03/01	+	+	-	-	-	-
4.	C/04/01	+	+	-	-	-	-
5.	C/05/01	+	+	-	-	-	-
6.	C/06/01	+	+	-	-	-	-
7.	C/07/01	+	+	-	-	-	-
8.	C/08/01	+	+	-	-	-	-
9.	C/09/01	+	+	-	-	-	-
10.	C/10/01	+	+	-	-	-	-
11.	C/11/01	+	+	-	-	-	-
12.	C/12/01	+	+	-	-	-	-
13.	C/13/01	+	+	-	-	-	-
14.	C/14/01	+	+	-	-	-	-
15.	C/15/01	+	+	+	+	+	+
16.	C/16/01	+	+	-	-	-	-
17.	C/17/01	+	+	+	+	+	+
18.	C/18/01	+	+	+	+	+	+
19.	C/19/01	+	+	+	+	+	+
20.	C/20/01	+	+	-	-	-	-
Σ							4 (20%)

Tabel 6. Data hasil isolasi dan identifikasi dari peternakan D.

No.	Nomor Sampel Susu	Isolasi pada NA	Isolasi pada BA (hemolisis)	Pewarnaan Gram	Uji Katalase (H ₂ O ₂ 3%)	Uji Fermentasi (MSA)	Uji Koagulase
1.	D/05/01	+	-	-	-	-	-
2.	D/05/02	+	-	-	-	-	-
3.	D/07/01	+	-	-	-	-	-
4.	D/07/02	+	-	-	-	-	-
5.	D/08/01	+	-	-	-	-	-
6.	D/08/02	+	-	-	-	-	-
7.	D/09/01	+	-	-	-	-	-
8.	D/09/02	+	-	-	-	-	-
9.	D/10/01	+	+	-	-	-	-
10.	D/10/02	+	-	-	-	-	-
11.	D/10/04	+	+	-	-	-	-
12.	D/11/02	+	-	-	-	-	-
13.	D/12/02	+	+	-	-	-	-
14.	D/21/02	+	+	-	-	-	-
15.	D/21/03	+	+	-	-	-	-
16.	D/22/02	+	-	-	-	-	-
17.	D/24/02	+	+	-	-	-	-
18.	D/24/03	+	+	-	-	-	-
19.	D/26/01	+	+	-	-	-	-
20.	D/26/02	+	+	-	-	-	-
21.	D/27/02	+	-	-	-	-	-
22.	D/27/04	+	-	-	-	-	-
23.	D/28/01	+	+	-	-	-	-
24.	D/28/02	+	+	-	-	-	-
25.	D/28/03	+	+	-	-	-	-
26.	D/28/04	+	+	-	-	-	-
27.	D/29/01	+	+	-	-	-	-
28.	D/29/02	+	-	-	-	-	-
29.	D/29/03	+	+	-	-	-	-
30.	D/29/04	+	-	-	-	-	-
Σ							0

Lampiran 2. Tabel data hasil pengujian kepekaan terhadap eberapa antibiotika.

Tabel 7. Data hasil pengujian kepekaan terhadap beberapa antibiotika di peternakan A.

No.	Nomor Sampel Susu	Penicillin G 10 IU	Ampicillin 10 µg	Methicillin 5 µg
1.	A/01/01	25.40 ^I	26.32 ^I	25.30 ^S
2.	A/01/02	28.21 ^I	34.70 ^S	22.02 ^S
3.	A/02/01	20.28 ^R	21.12 ^I	22.08 ^S

Tabel 8. Data hasil pengujian kepekaan terhadap beberapa antibiotika di peternakan B.

No.	Nomor Sampel Susu	Penicillin G 10 IU	Ampicillin 10 µg	Methicillin 5 µg
1.	B/02/03	21.65 ^I	20.58 ^R	21.10 ^S
2.	B/03/01	15.12 ^R	15.12 ^R	15.12 ^S
3.	B/04/02	15.22 ^R	16.30 ^R	18.00 ^S
4.	B/04/04	20.65 ^R	20.88 ^R	18.22 ^S
5.	B/05/01	18.18 ^R	17.04 ^R	20.96 ^S
6.	B/05/04	16.34 ^R	25.86 ^I	22.16 ^S
7.	B/06/01	19.16 ^R	14.15 ^R	20.78 ^S
8.	B/06/02	18.16 ^R	16.70 ^R	20.96 ^S
9.	B/07/01	19.20 ^R	20.98 ^R	24.98 ^S
10.	B/07/02	18.17 ^R	22.30 ^I	17.42 ^S
11.	B/07/03	17.92 ^R	17.84 ^R	18.14 ^S
12.	B/07/04	18.48 ^R	16.15 ^R	30.46 ^S
13.	B/08/03	37.46 ^S	18.10 ^R	17.64 ^S
14.	B/08/04	16.34 ^R	18.30 ^R	16.52 ^S

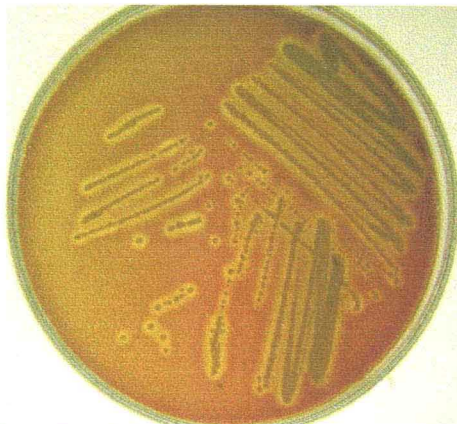
Tabel 9. Data hasil pengujian kepekaan terhadap beberapa antibiotika di peternakan C.

No.	Nomor Sampel Susu	Penicillin G 10 IU	Ampicillin 10 µg	Methicillin 5 µg
1.	C/15/01	21.71 ^I	20.58 ^R	22.66 ^S
2.	C/17/01	19.60 ^R	17.87 ^R	20.84 ^S
3.	C/18/01	29.50 ^S	20.28 ^R	20.01 ^S
4.	C/19/01	20.70 ^R	12.70 ^R	23.71 ^S

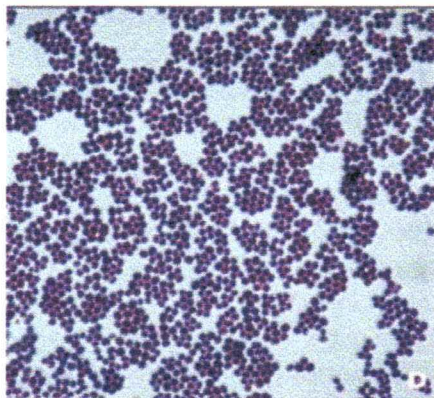
Lampiran 3. Foto-foto hasil dari isolasi dan pengujian terhadap *Staphylococcus aureus*.



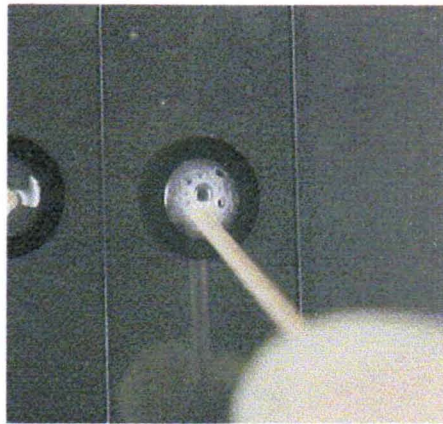
Gambar 9. Isolasi pada Media NA. Koloni-koloni *Staphylococcus aureus* tumbuh dengan warna kuning keemasan.



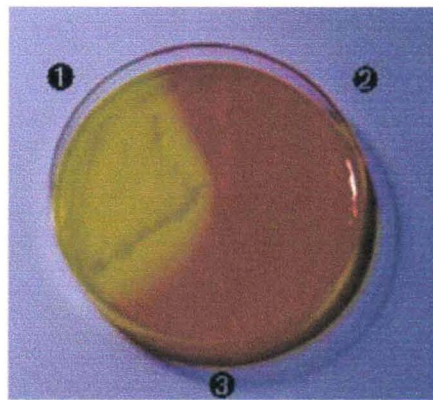
Gambar 10. Isolasi pada Media BA. β -hemolisis ditandai dengan timbulnya zona bening disekitar koloni bakteri *Staphylococcus aureus*.



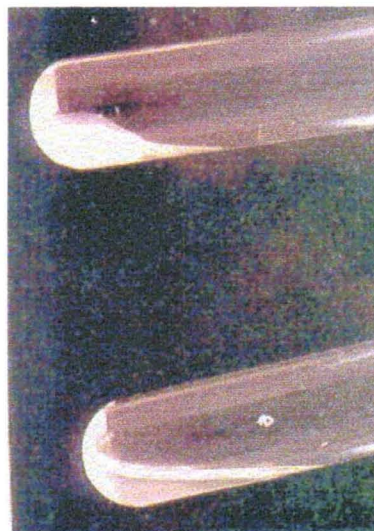
Gambar 11. Pewarnaan Gram (pembesaran 1000x). Morfologi *Staphylococcus aureus* tampak berwarna ungu/violet, berbentuk bulat bergerombol (Gram positif cocci).



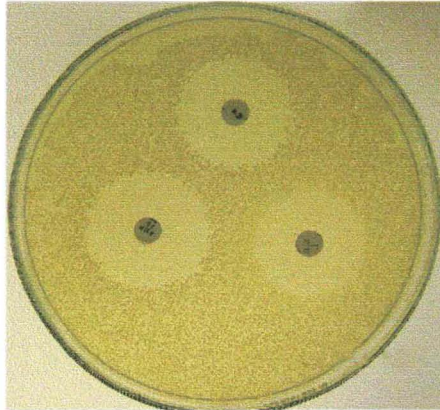
Gambar 12. Uji Katalase. *Staphylococcus aureus* membebaskan O_2 dari larutan H_2O_2 3% yang ditandai dengan timbulnya gelembung-gelembung gas.



Gambar 13. Uji Fermentasi pada Media MSA. (1) *Staphylococcus aureus* memfermentasi mannitol ditandai dengan perubahan warna media dari merah menjadi kuning. (2) dan (3) bakteri spesies lain.



Gambar 14. Uji Koagulase. Atas – koagulase positif dan bawah – koagulase negatif



Gambar 15. Uji Kepekaan Antibiotika. Disk-disk antibiotika menghambat pertumbuhan kuman-kuman *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekeliling disk (zona hambatan). Disk atas: penicillin G 10 IU, kiri bawah: ampicillin 10 μg , dan kanan bawah: methicillin 5 μg .