

SKRIPSI

HUBUNGAN DERAJAT UJI MASTITIS SUBKLINIS MENGUNAKAN CALIFORNIA MASTITIS TEST DENGAN JUMLAH BAKTERI PADA SUSU



Oleh :

BETA ARDHIANDINI PUTRI

NIM 060413301

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2008**

**HUBUNGAN DERAJAT UJI MASTITIS SUBKLINIS
MENGUNAKAN *CALIFORNIA MASTITIS TEST*
DENGAN JUMLAH BAKTERI PADA SUSU**

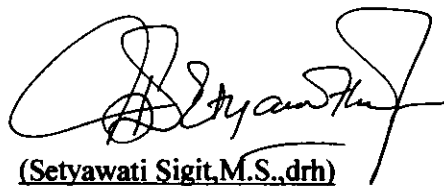
Skripsi
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
Pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh
BETA ARDHIANDINI PUTRI
NIM 060413301

Menyetujui
Komisi Pembimbing,



(Hasutji Endah Narumi, M.P.,drh)
Pembimbing Pertama



(Setyawati Sigit, M.S.,drh)
Pembimbing Kedua

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**Hubungan Derajat Uji Mastitis Subklinis Menggunakan
California Mastitis Test Dengan Jumlah Bakteri Pada Susu**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 26 Agustus 2008

Beta Ardhiandini Putri
NIM. 060413301

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 18 September 2008

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Dr. Mustofa Helmi E, DTAPH., drh.

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

Anggota : Emy Koestanti S, M.Kes., drh.

Pembimbing I : Hasutji Endah Narumi, M.P., drh.

Pembimbing II : Setyawati Sigit, M.S., drh.

Telah diuji pada

Tanggal : 13 November 2008

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

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

Anggota : Dr. Nenny Harijani, M.Si., drh.

Emy Koestanti S, M.Kes., drh.

Hasutji Endah Narumi, M.P., drh.

Setyawati Sigit, M.S., drh.

Surabaya, 25 November 2008

Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D, drh.
NIP. 130 687 305

**CORRELATION BETWEEN SUBCLINICAL
MASTITIS STAGES USE *CALIFORNIA MASTITIS
TEST* WITH TOTAL BACTERIA IN MILK**

Beta Ardhiandini Putri

ABSTRACT

This study was conducted to determine the relation between subclinical mastitis stages and total bacteria in milk. Milk from 45 cows were collected and investigated. At the first investigation, 2 ml milk samples were collected in paddle containing CMT reagents with same volume and then staggered. Determining of mastitis stages were based on the presence of gel which is the result of CMT reagent and leucocytes reaction. Second investigation was bacterial counting using droplet method. In this method, 20 µl micro pipettes were used. The result in this study is: in score 1 (trace) has a high amount of bacteria which is 40.060.000 CFU. In score 2 (positive 1), the amount of bacteria decrease to 19.175.000 CFU. In score 3 (positive 2), the amount of bacteria revolve 8.345.000 CFU and in score 4 (positive 3) the amount of bacteria turn down into 3.400.000 CFU.

Key word : *Mastitis stages, California Mastitis Test, Total bacteria, milk.*

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah – Nya, sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul : **Hubungan Derajat Uji Mastitis Subklinis Menggunakan *California Mastitis Test* Dengan Jumlah Bakteri Pada Susu.**

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih atas terselesaikannya skripsi ini kepada yang terhormat :

1. Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph. D., drh. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah memberikan fasilitas dan kemudahan selama masa studi penulis.
2. Hasutji Endah Narumi, M.P., drh. dan Setiawati Sigit, M.S., drh. selaku dosen pembimbing pertama dan dosen pembimbing kedua yang telah dengan penuh perhatian memberikan saran dan bimbingan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Erni Rosilawati S.I, M.S., drh., Dr. Nenny Harijani, M.Si., drh. dan Emy Koestanti S, M.Kes., drh. selaku dosen penguji yang telah berkenan menguji penulis dan memberi saran demi kesempurnaan skripsi ini.
4. Seluruh dosen dan staf Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas ilmu dan wawasan yang telah penulis terima selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
5. Bapakku tercinta Samsul Fadji, BA dan mamaku tercinta Suminingsih yang telah memberikan segalanya, doa, dorongan dan semangat dalam menyelesaikan skripsi ini.

6. Saudaraku tercinta mas Candra dan Dik Kiki yang telah memberikan semangat dalam mengisi hari-hari dan penyelesaian skripsi ini.
7. Dokter hewan Farida yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian di lapangan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
8. Para peternak di GKSI JATIM Desa Sawiran Kec. Purwodadi Pasuruan yang telah membantu dalam pelaksanaa penelitian.
9. Bapak Miskan dan keluarga yang telah menyediakan tempat tinggal selama pengambilan sampel.
10. Bapak Purjoto dan bapak Sugiri selaku staf Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi FKH-UA.
11. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Surabaya, Agustus 2008

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN	ii
HALAMAN IDENTITAS.....	iii
ABSTRAK	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar belakang.....	1
1.2. Rumusan masalah.....	2
1.3. Landasan Teori.....	2
1.4. Tujuan penelitian.....	3
1.5. Manfaat penelitian.....	3
1.6. Hipotesis.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Pengertian Mastitis.....	4
2.2. Mastitis Subklinis.....	5
2.3. Penyebab Mastitis.....	5
2.4. Kejadian Mastitis.....	6
2.5. Kerugian Akibat Mastitis.....	7
2.6. Diagnosis Mastitis.....	7
2.7. Leukosit	10
2.8. Total Plate Count.....	11
BAB 3. MATERI DAN METODE.....	15
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	15
3.2. Materi Penelitian.....	15
3.2.1. Bahan penelitian.....	15
3.2.2. Alat penelitian.....	15
3.3. Metode Penelitian.....	16
3.3.1. Pengambilan Sampel.....	16
3.3.2. Pemeriksaan Sampe Menggunakan CMT	16
3.3.3. Penghitungan Jumlah Bakteri.....	16
3.4. Rancangan Percobaan dan Analisis Data.....	18
BAB 4. HASIL PENELITIAN	19

BAB 5. PEMBAHASAN	21
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	25
RINGKASAN	26
DAFTAR PUSTAKA.....	29
LAMPIRAN	32

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Interpretasi dan pemberian skor CMT.....	9
4.1. Hasil uji mastitis subklinis dan penghitungan jumlah bakteri.....	19

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Diagram alur penelitian	32
2. Alat- alat penelitian.....	33
3. Bahan-bahan penelitian.....	34
4. Hasil penelitian.....	35
5. Cara kerja uji <i>California Mastitis Test</i> (CMT).....	38
6. Penghitungan koefisien korelasi.....	39

BAB 1

PENDAHULUAN

BAB 1 PENDAHULUAN

1. 1. Latar Belakang Masalah

Susu adalah cairan yang berasal dari ambing sapi yang sehat, dengan pemerahan sempurna dan benar, tanpa menambah atau mengurangi sesuatu komposisi (Ditjen Peternakan, 1983).

Menurut Anonimus (2000), untuk memenuhi kebutuhan susu maka produksi susu harus ditingkatkan yaitu harus mencapai target konsumsi standar kecukupan gizi 6,4 Kg susu/kapita/tahun.

Salah satu penghambat peningkatan produksi susu adalah mastitis. Jumlah kasus mastitis di Pulau Jawa cukup tinggi, yaitu sebesar 67% dan menyebabkan penurunan produksi susu sebesar 12,8% per hari (Sudarwanto, 1998).

Mastitis atau penyakit radang ambing merupakan masalah utama dalam tatalaksana usaha peternakan sapi perah yang sangat merugikan peternak, karena dapat menurunkan produksi susu dalam jumlah besar dan pengobatan terhadap penyakit ini sulit dilakukan sampai sembuh (tuntas) serta memerlukan biaya yang besar (Sudarwanto dkk, 1993).

Menurut Philpot (1984), perlu dilakukan tindakan deteksi mastitis secara dini khususnya pada mastitis subklinis. Mastitis subklinis adalah mastitis yang tidak disertai gejala klinis pada ambing dan perubahan fisik susu yang dikeluarkannya.

Pemeriksaan menggunakan *California Mastitis Test* dan penghitungan jumlah bakteri pada susu merupakan salah satu cara yang dilakukan untuk mengetahui kualitas susu (Pamela and Douglas, 2002).

Reagen dalam *California Mastitis Test* akan bereaksi dengan leukosit yang secara normal berada dalam tubuh. Semakin tinggi derajat mastitis yang dihasilkan mempunyai arti jumlah leukosit dalam tubuh juga semakin tinggi. Tingginya jumlah leukosit ini menandakan adanya invasi dari bakteri, semakin banyak bakteri yang menginfeksi maka jumlah leukosit yang dihasilkan semakin banyak (Robert and Admondson, 1993).

Menurut Jones *et al* (1998), selain penurunan produksi susu yang drastis pada mastitis subklinis ditemukan juga bakteri pada sekresi susu dan perubahan komposisi susu.

1. 2. Perumusan Masalah

Apakah ada hubungan antara derajat uji mastitis subklinis menggunakan *California Mastitis Test* dengan jumlah bakteri pada susu?

1. 3. Landasan Teori

Mastitis terjadi ketika ambing mengalami peradangan karena proses pelepasan leukosit ke kelenjar *mammae* sebagai respon dari invasi di lubang puting yang biasanya disebabkan oleh bakteri (Jones et al, 1993).

Leukosit tinggi pada susu merupakan indikasi kuat terjadinya mastitis yang disebabkan oleh bakteri. *Reagen California Mastitis Test* (CMT), ketika dimasukkan dalam susu akan bereaksi dengan leukosit sehingga terbentuk gel.

Semakin tinggi infeksi mastitis maka semakin banyak leukosit yang dikeluarkan dan semakin kuat pembentukan gelnya (Robert dan Edmondson, 1993).

Menurut Subronto (1989), sekarang telah banyak metode untuk mendeteksi mastitis subklinis di lapangan diantaranya *California Mastitis Test* (CMT), *Whiteside Test* (WST), dan WST yang telah dimodifikasi.

Derajat ang dihasilkan dari uji CMT terdiri dari negatif, *trace*, positif 1, positif 2, dan positif 3. Faktor sanitasi seperti kebersihan kandang dan kebersihan pada saat proses pemerahan juga bisa menyebabkan tingginya kandungan bakteri didalam susu (Rice, 1981).

1. 4. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah ada hubungan antara derajat uji mastitis menggunakan *California Mastitis Test* dengan jumlah bakteri yang terkandung dalam susu.

1. 5. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah sebagai media mendiagnosis mastitis subklinis dan jumlah bakteri dalam susu. Mastitis subklinis akan menyebabkan penurunan produksi, sehingga penghasilan peternak juga akan menurun. Selain itu kandungan bakteri yang tinggi dalam susu juga akan berpengaruh pada harga susu dan penghasilan peternak.

1. 6. Hipotesis Penelitian

Ada hubungan antara derajat mastitis yang diperiksa menggunakan *California Mastitis Test* dengan jumlah bakteri pada susu.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2. 1. Pengertian Mastitis

Mastitis berasal dari bahasa Yunani "*mastos*" yang mempunyai arti ambing dan "*itis*" yang berarti radang (Schalm *et al.*, 1971; Philpot, 1984).

Mastitis adalah radang pada ambing yang terjadi ketika dilepaskannya leukosit ke dalam kelenjar susu sebagai respon atas invasi bakteri pada saluran puting susu. Bakteri ini berkembang dan menghasilkan toksin yang menyebabkan gangguan pada jaringan sekresi susu dan berbagai saluran pada seluruh kelenjar susu. Peningkatan leukosit atau sel somatik, akan menyebabkan penurunan produksi susu dan perubahan komposisi susu. Perubahan ini pada akhirnya akan mempengaruhi kualitas dan kuantitas susu (Jones *et al.*, 1998).

2. 2. Mastitis Subklinis

Mastitis subklinis adalah mastitis yang paling sering terjadi, sekitar 15-40 kali dari penyakit mastitis klinis. Secara klinis radang tidak tampak dan tidak ada perubahan pada susu. Perubahan hanya terjadi pada tingkat produksi yaitu penurunan kualitas susu (Hurley dan Morin, 2002).

Menurut Jones *et al* (1998), selain penurunan produksi susu pada mastitis subklinis ditemukan juga bakteri pada sekresi susu dan perubahan komposisi susu.

2. 3. Penyebab Mastitis

Mikroorganisme yang umum ditemukan pada kasus mastitis adalah *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Coliform*, dan *Pseudomonas* (Philpot, 1984). Sedangkan menurut Bodman dan Rice (1995), mikroorganisme patogen penyebab mastitis yang paling sering adalah *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, dan *Mycoplasma spp.*, serta mikroorganisme penyebab mastitis yang ada di lingkungan seperti *Escherichia coli*, *Nocardia*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *non-agalactia Streptococcus spp.*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas* dan *Serratia spp.*

Subronto (1989) mengatakan, selain faktor-faktor mikroorganisme yang meliputi jenis, jumlah, dan virulensinya, faktor hewan dan lingkungan juga berpengaruh dalam menentukan mudah tidaknya terjadi mastitis dalam suatu peternakan. Faktor yang berasal dari hewan meliputi bentuk ambing, puting, dan umur, sedangkan faktor yang berasal dari lingkungan antara lain pengelolaan, pakan, perkandangan, banyaknya sapi dalam satu kandang, sanitasi kandang dan cara pemerahan.

Menurut Browning *et al.* (1994), sapi yang berumur tua umumnya menderita mastitis karena menjadi *reservoir* bagi bakteri patogen. Blood dan Henderson (1983) menyatakan bahwa faktor predisposisi dari mastitis adalah luka pada ambing dan puting, hal ini juga dipengaruhi oleh faktor keturunan, manajemen dan pemberian pakan.

Faktor lingkungan, iklim, kondisi ambing, kondisi puting, dan alat atau cara pemerahan susu juga bisa menyebabkan mastitis (Ingalls, 2000).

Agen infeksi dapat masuk melalui luka pada puting atau ambing, pencucian ambing, tangan pemerah, mesin pemerah dan lingkungan sekitar kandang. Invasi mikroorganisme dipermudah oleh keadaan lingkungan yang kotor, populasi kuman tinggi, adanya lesi pada puting atau apabila daya tahan sapi menurun, misalnya setelah sakit atau akibat transportasi. Agen infeksi bisa masuk melalui luka pada puting atau ambing melalui tangan pemerah, atau stres (Blood dan Henderson, 1983). Penyebab mastitis sangat kompleks dan bervariasi, tetapi dengan adanya program pengontrolan yang baik dapat meminimalisasi kejadian dan kerugian yang ditimbulkan (Anonymous, 1995).

2. 4. Kejadian Mastitis

Berdasarkan jalan penyakitnya mastitis dibedakan menjadi mastitis klinis dan mastitis subklinis. Pembagian ini dilakukan berdasarkan gejala yang tampak seperti warna yang kemerahan, bengkak pada ambing, panas, sakit dan penurunan fungsi termasuk juga penurunan produksi, perubahan komposisi susu dan perubahan dalam penampakan (Hurley dan Morin, 2002).

Mastitis klinis adalah radang ambing yang bisa dilihat dengan jelas melalui gejala-gejala abnormalitas, baik penampakan ambing yang sakit maupun pada susu yang dihasilkan, pada susu seperti terdapat serpihan-serpihan dan bekuan-bekuan fibrin sedangkan pada ambing terlihat terjadi

pembengkakan, panas dan sensitif. Mastitis klinis dapat digolongkan menjadi mastitis perakut, akut, subakut, dan kronik (Hurley dan Morin, 2002).

2. 5. Kerugian Akibat Mastitis

Mastitis adalah salah satu penyakit yang sangat merugikan peternak sapi perah, penyakit ini menyebabkan penurunan produksi susu dalam jumlah besar diikuti dengan penurunan kualitas susu (Ingalls, 2000).

Menurut Sudarwanto (1998) bahwa kerugian berupa penurunan produksi susu karena mastitis subklinis di Pulau Jawa sebesar 12,8% per hari, kerugian yang lain adalah biaya pengobatan dan perawatan yang tidak sedikit, pengafkiran susu yang berasal dari ambing penderita mastitis dan pergantian sapi. Dalam 100 ekor sapi terdapat 15 sampai 40 kasus mastitis subklinis (Anonymous, 1995). Menurut Rice (1987), kerugian akibat mastitis di Amerika Serikat adalah sebesar satu milyar dollar setiap tahunnya, dan kerugian terbesar disebabkan oleh kasus mastitis subklinis yaitu sekitar 70% dari total kerugian karena menyebabkan penurunan produksi.

2. 6. Diagnosis Mastitis

Menurut Schalm *et al.* (1971), cara mendiagnosis mastitis biasa dengan pemeriksaan fisik yaitu pemeriksaan terhadap ambing dan susu (inspeksi, palpasi dan *strip cup*), sedangkan pemeriksaan secara kimia dan pemeriksaan mikroskopis yaitu pemeriksaan terhadap pH, klorida dan

somatik susu serta pemeriksaan bakteriologis kultur bakteri patogen. Untuk mendiagnosis mastitis klinis dapat dilakukan dengan cara inspeksi dan palpasi pada ambing yang ditandai dengan gejala-gejala seperti keras, merah, panas, sakit dan adanya perubahan pada susu yang dihasilkan (encer, berlendir, bau, warna berubah).

Menurut Philpot (1984), adanya penetrasi mikroorganisme ke dalam lubang puting akan menyebabkan reaksi dari pertahanan tubuh sapi dan menghasilkan sejumlah besar leukosit ke daerah yang terinfeksi. Philpot juga mengatakan bahwa penggunaan *California Mastitis Test* (CMT) dan uji tidak langsung lainnya yang sejenis sangat berguna dalam mendeteksi mastitis subklinis. Ditambahkan pula dalam uji ini, reagen CMT bereaksi dengan leukosit yang terdapat dalam susu sehingga menghasilkan bentukan gel, reaksi yang terjadi tersebut diberi simbol N (negatif), T (trace), 1 (lemah), 2 (positif lemah) atau 3 (positif kuat) tergantung intensitas bentukan gel yang terjadi pada saat reagen bercampur dengan susu.

Kegunaan dari CMT adalah untuk mendeteksi mastitis subklinis, dimana deteksi dapat dilakukan terhadap hasil susu sapi secara individu ataupun untuk seluruh peternakan. Cara kerja CMT adalah, bila reagen CMT dicampur dengan susu maka bahan kimia atau reagen tersebut bereaksi dengan leukosit (sel darah putih) yang umumnya meningkat bila ada infeksi, kemudian akan tampak reaksi yang berupa cairan yang mengental seperti gel yang menunjukkan adanya leukosit dan ini

mengindikasikan adanya radang. Deteksi pada masing-masing kuartir dengan alat *paddle* plastik yang mempunyai empat mangkuk bertanda A, B, C, dan D untuk memudahkan pengidentifikasian sampel per kuartir. Pembacaan hasil uji CMT selama 10 detik, waktu pembacaan hasil (dalam detik) penting karena reaksi ini akan berdisintegrasi setelah lebih kurang 20 detik. Pemberian skor CMT bervariasi tergantung dari kemampuan operator untuk membaca hasil (Rice, 1981).

Deskripsi reaksi yang terjadi pada pembacaan skor CMT dapat dilihat pada Tabel 2.1

Tabel 2.1. Interpretasi dan pemberian skor CMT

Simbol	Arti	Deskripsi reaksi yang terjadi
N	Negatif	Campuran tetap cair, homogen, tidak ada tanda-tanda kekentalan
T	Trace	Kekentalan ringan dan bila paddle digoyang terus akan menghilang. Baca hasilnya dalam 10 detik
1	Positif lemah	Kekentalan ringan tanpa ada kecenderungan menjadi jelly, bila peddle diputar terus (20 detik atau lebih) akan menghilang. Baca hasilnya

		dalam 10 detik.
2	Positif sedang	Campuran segera mengental dan menjurus ke bentuk jelly, bila campuran diputar maka akan bergerak ditengah saja, sehingga pinggir mangkuk tampak jelas, bila paddle didiamkan campuran akan menutupi seluruh mangkuk paddle. Baca hasilnya dalam 10 detik.
3	Positif kuat	Membentuk jelly kental di tengah, bahkan bila paddle berhenti digoyangkan.

Sumber : Rice (1981)

2. 7. Leukosit

Leukosit atau sel darah putih berasal dari bahasa Yunani yaitu *leukos* yang berarti putih dan *kytos* yang berarti sel. Nama sel darah putih berasal dari fakta bahwa setelah sampel darah disentrifuge, sel berwarna putih akan berada di *buffy coat*, lapisan tipis antara sel darah merah dan plasma darah (Wikipedia, 2008).

Leukosit merupakan sel dalam sistem pertahanan yang mempertahankan tubuh dari berbagai penyakit infeksius dan meterial asing. Leukosit diproduksi dan diperoleh dari sel *multipoten* pada sumsum

tulang belakang, yang disebut juga dengan *hematopoetik stem cell*. Jumlah leukosit dalam darah sering digunakan sebagai indikator suatu penyakit (Wikipedia, 2008).

2. 8.Total Plate Count

Analisis kuantitatif mikrobiologi pada bahan pangan penting dilakukan untuk mengetahui mutu bahan pangan dan menghitung proses pengawetan yang akan diterapkan pada bahan pangan tersebut. Salah satu cara yang dapat digunakan untuk menghitung atau mengukur jumlah jasad renik didalam suatu bahan yaitu dengan penghitungan jumlah sel dengan metode hitungan cawan atau disebut juga dengan Total Plate Count (TPC) (Fardiaz, 1992).

Prinsip dari metode ini adalah jika sel bakteri yang hidup ditumbuhkan pada media agar, maka sel tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop (Budiarto *et al.*, 2006). Menurut Fardiaz (1992) metode TPC merupakan salah satu cara untuk menentukan jumlah bakteri dengan beberapa keuntungan yaitu hanya sel yang masih hidup yang dapat dihitung, beberapa jenis bakteri dapat dihitung sekaligus, dan dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi bakteri, karena koloni yang terbentuk mungkin berasal dari satu sel bakteri dengan pertumbuhan yang spesifik.

Metode TPC, bahan pangan yang diperkirakan mengandung lebih dari 300 sel bakteri per mililiter atau per gram, memerlukan perlakuan

pengenceran sebelum ditumbuhkan pada media agar di cawan petri, setelah proses inkubasi maka akan terbentuk koloni pada cawan petri tersebut dalam jumlah yang dapat dihitung, dimana jumlah terbaik adalah antara 30 sampai 300 koloni. Pengenceran biasanya dilakukan secara desimal yaitu 1:10, 1:100, 1:1000, dan seterusnya, atau 1:100, 1:10.000, 1:1000.000, dan seterusnya (Fardiaz, 1992). Larutan yang digunakan sebagai pengencer dapat berupa larutan Phosphat Buffer, larutan garam fisiologis 0,85-0,9 %, larutan Ringer, Peptone water 1%, atau aquades steril (Budiarto *et al.*, 2006).

Menurut Budiarto *et al.* (2006) cara pemupukan dalam metode TPC dapat dibedakan atas dua cara yaitu metode tuang dan metode permukaan. Metode tuang, sejumlah sampel (0,1 ml atau 1 ml) dari pengenceran yang dikehendaki dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian ditambah agar cair steril yang telah didinginkan (47-50°C) sebanyak 15-20 ml dan digoyangkan supaya sampel menyebar rata. Pada pemupukan dengan metode permukaan, terlebih dahulu dibuat agar cawan kemudian sebanyak 0,1 ml sampel yang telah diencerkan dimasukkan pada permukaan agar tersebut, dan diratakan dengan batang gelas melengkung yang steril. Jumlah koloni dalam sampel dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah bakteri} = \text{jumlah koloni} \times \text{1/faktor pengenceran}$$

Untuk melaporkan hasil analisis mikrobiologi dengan metode *Total Plate Count* digunakan suatu standart yang disebut *Standart Plate Count* (SPC) sebagai berikut:

1. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30 sampai 300.
2. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan satu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan dapat dihitung sebagai satu koloni.
3. Satu deretan atau rantai koloni yang terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni.
4. Cara penulisan: satu angka di depan dan belakang koma kali pengenceran, misalnya: $2,5 \times 10^{-3}$

Selain metode Tuang dan Permukaan, masih ada satu metode dalam perhitungan jumlah bakteri yaitu dengan metode *droplet* (penetesan). Dalam prosedur penetesan pada cawan, media yang telah dipersiapkan terlebih dahulu dibagi menjadi tiga atau empat bagian dan setetes larutan contoh (0,02 ml) dipindahkan ke masing – masing bagian. Langkah selanjutnya setelah tetesan tersebut mengering adalah cawan petri diinkubasi. Satu pipet penetes yang sudah dikalibrasi dipergunakan untuk mengukur dan memindahkan tetesan. Pengenceran sampel dilakukan sedemikian rupa sehingga diperoleh antara 5-20 koloni terbentuk dari setiap tetesan pada permukaan media agar. Salah satu keuntungan dari metode ini adalah bahwa perhitungan dapat dilakukan tiga sampai empat

kali ulangan sekaligus dalam satu cawan, sehingga dapat menghemat bahan-bahan untuk uji mikrobiologi. Contoh bahan yang mengandung sekecil 250 sel setiap mililiter masih dapat dihitung dan teknik ini dapat diterapkan dalam percobaan-percobaan lapangan (Buckle *et al.*, 1987).

Rumus penghitungan jumlah bakteri pada metode *droplet* adalah sebagai berikut:

Jumlah bakteri = 50 X Jumlah Koloni X 1/Faktor Pengenceran

BAB 3

MATERI DAN METODE

BAB 3 MATERI DAN METODE

3. 1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 30 Mei sampai 18 Juli 2008 di kandang GCSI JATIM Desa Sawiran Kecamatan Purwodadi Pasuruan dan Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

3. 2. Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa sampel susu dari 45 ekor induk sapi. Sampel susu ini berasal dari satu puting dari masing-masing sapi yaitu puting bagian kiri belakang. Pengambilan dan perlakuan terhadap sampel membutuhkan perlengkapan sebagai berikut:

3. 2. 1. Bahan Penelitian

Bahan yang dibutuhkan adalah 45 sampel susu, reagen *California Mastitis Test* (CMT), Nutrient Agar, NaCl 0,9% sebagai pengencer, alkohol 70%, kapas, dan spiritus.

3. 2. 2. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *paddle* CMT yaitu papan penguji yang mempunyai empat mangkuk tempat susu dari masing-masing kuartir yang akan diperiksa, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, bunsen, pipet 10 ml, *yellow tube*, pipet *eppendorf soccorex* 5-50 µl, sterilisator, inkubator, dan *coolbox*.

3. 3. Metode Penelitian

3. 3. 1. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel susu dilakukan di kandang GKSI JATIM Desa Sawiran Kecamatan Purwodadi Pasuruan. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berupa sampel susu pancaran pertama (*foremilk*) yang diambil pada perahan pagi (05.30 WIB). Sampel susu ini kemudian dimasukkan ke dalam botol yang sudah disterilkan dan diberi label, setelah itu disimpan di dalam coolbox yang sudah diberi es batu agar sampel tidak rusak selama perjalanan menuju laboratorium.

3. 3. 2. Pemeriksaan Sampel Susu Menggunakan CMT

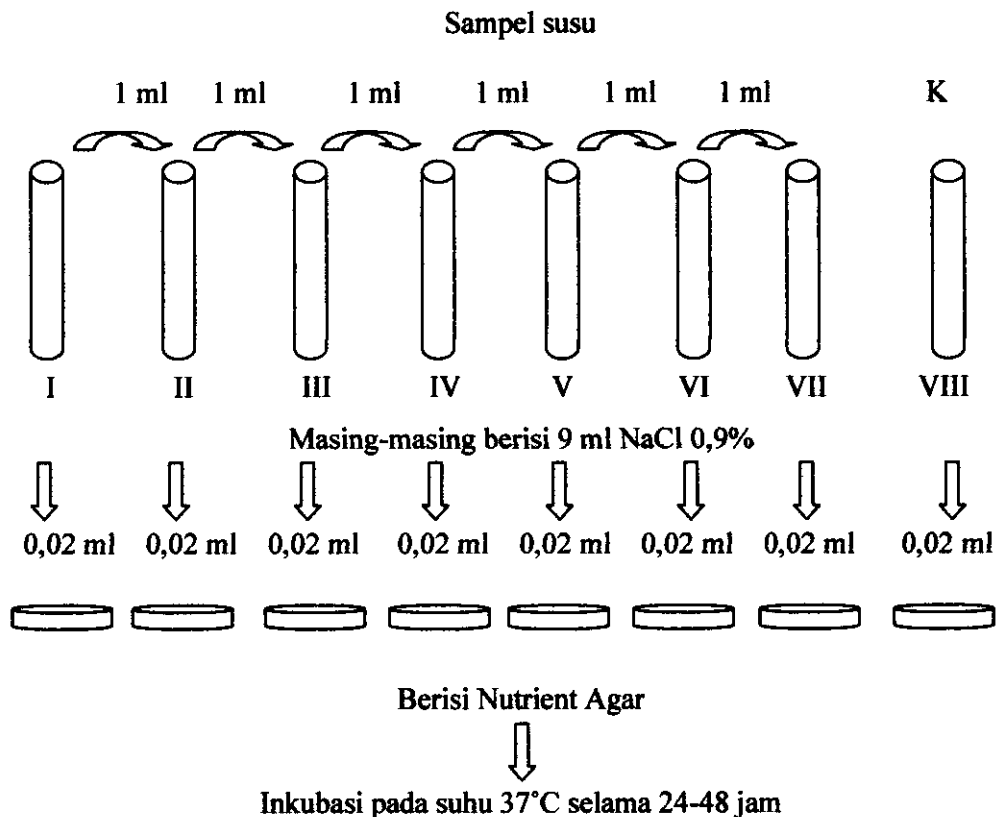
Pemeriksaan sampel untuk pertama kali dilakukan di kandang yaitu dengan menggunakan CMT (*California Mastitis Test*). Uji ini disebut dengan uji mastitis. Caranya adalah sebagai berikut: ke dalam *paddle*, dituangkan susu curahan pertama (*Foremilk*) dari puting yang ingin diperiksa. Dua mililiter susu pada telapa *paddle* ditambahkan reagen CMT sebanyak dua mililiter, kemudian *paddle* diputar secara horisontal perlahan-lahan selama sepuluh detik. Reaksi diamati pada akhir putaran dan nilai-nilai N (negatif), T (*Trace*), positif 1, positif 2, dan positif 3 digunakan berdasarkan atas pembentukan gel pada dasar larutan.

3. 3. 3. Perhitungan Jumlah Bakteri

Langkah yang dilakukan sebelum penghitungan jumlah bakteri adalah dilakukan terlebih dahulu pengenceran terhadap sampel susu. Proses pengenceran dilakukan dengan menggunakan delapan tabung reaksi yang pada masing-masing

tabung telah diisi sembilan mililiter NaCl 0,9% sebagai pengencer. Pada tabung nomor I dimasukkan satu mililiter sampel susu (pengenceran 10^{-1}). Dari tabung pertama ini diambil satu mililiter dan dimasukkan ke tabung II (pengenceran 10^{-2}), dan seterusnya sampai pada pengenceran 10^{-7} .

Proses penanaman dilakukan dengan mengambil 0,02 ml sampel susu yang telah diencerkan pada masing – masing tingkat pengenceran menggunakan pipet *eppendorf*, yang kemudian diteteskan pada media Nutrient Agar dalam cawan petri yang telah dibagi menjadi empat bagian. Proses penghitungan jumlah bakteri yang digunakan hanya cawan petri yang menunjukkan jumlah bakteri antara 5 sampai 20 koloni tiap tetes sampel susu (Buckle *et al.*, 1987).



Keterangan:

- Tabung I : 1 ml susu + 9 ml NaCl 0,9% = pengenceran 10^{-1}
- Tabung II : 1 ml dari tabung I + 9 ml NaCl 0,9% = pengenceran 10^{-2}
- Tabung III : 1 ml dari tabung II + 9 ml NaCl 0,9% = pengenceran 10^{-3}
- Tabung IV : 1 ml dari tabung III + 9 ml NaCl 0,9% = pengenceran 10^{-4}
- Tabung V : 1 ml dari tabung VI + 9 ml NaCl 0,9% = pengenceran 10^{-5}
- Tabung VI : 1 ml dari tabung V + 9 ml NaCl 0,9% = pengenceran 10^{-6}
- Tabung VII : 1 ml dari tabung VI + 9 ml NaCl 0,9% = pengenceran 10^{-7}
- Tabung VIII : 9 ml NaCl 0,9% = Kontrol

3. 4. Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Penelitian ini menggunakan analisis korelasi, analisis ini digunakan untuk mengetahui hubungan antara derajat mastitis yang diuji menggunakan *California Mastitis Test* (CMT) dengan jumlah bakteri yang terdapat pada susu di GKSI JATIM Desa Sawiran Kecamatan Purwodadi Pasuruan. Apabila hasilnya menunjukkan adanya suatu hubungan maka langkah selanjutnya adalah dilakukan uji untuk mengetahui keeratan hubungan tersebut, apakah signifikan atau tidak.

BAB 4

HASIL PENELITIAN

BAB 4. HASIL PENELITIAN

Penelitian dilakukan dalam dua tahap yaitu pemeriksaan derajat mastitis subklinis di kandang dan penghitungan jumlah bakteri di laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Tahap pertama adalah pemeriksaan derajat mastitis subklinis dengan menggunakan *California Mastitis Test* yang dilakukan di kandang. Tahap kedua dari penelitian ini adalah penghitungan jumlah bakteri secara *Total Plate Count* (TPC) dengan menggunakan metode *droplet*. Metode ini digunakan pipet *eppendorf* dengan skala 20 µl atau 0,02 ml, sehingga dalam hasil perhitungan jumlah bakteri hanya cawan petri yang mempunyai jumlah koloni 5-20 saja yang digunakan atau dihitung.

Berdasarkan hasil penghitungan jumlah bakteri pada masing – masing derajat mastitis, dibuat penilaian atau *scoring* pada derajat mastitis yaitu sebagai berikut: trace (1), positif 1 (2), positif 2 (3), dan positif 3 (4).

Tabel 4. 1. Hasil penghitungan jumlah bakteri pada masing-masing derajat mastitis subklinis.

Derajat Mastitis Subklinis	Jumlah Sampel	Jumlah Bakteri (CFU)
<i>Trace</i>	14	40.060.000
Positif 1	11	19.175.000
Positif 2	10	8.345.000
Positif 3	10	3.400.000

Analisis korelasi yang dilakukan menghasilkan hasil $r = 0,45$ yang berarti bahwa antara derajat mastitis dengan jumlah bakteri tidak ada korelasi atau hubungan.

BAB 5

PEMBAHASAN

BAB 5 PEMBAHASAN

Penelitian tentang hubungan derajat mastitis dengan jumlah bakteri pada susu mempunyai tujuan untuk mengetahui apakah ada hubungan antara derajat mastitis dengan jumlah bakteri yang terkandung dalam susu.

Derajat mastitis yang dihasilkan ditentukan oleh perbedaan pembentukan gel. Gel terbentuk karena adanya reaksi antara *reagen* yang terkandung dalam *California Mastitis Test* dengan leukosit yang terdapat dalam susu. Semakin kuat pembentukan gelnya maka derajat mastitis juga semakin tinggi. Derajat mastitis dari tingkat yang rendah ke tinggi terdiri dari negatif, *trace* (ragu-ragu), positif 1 (lemah), positif 2 (positif lemah), dan positif 3 (positif kuat) (Philpot, 1984).

Mastitis adalah radang pada ambing yang terjadi ketika dilepaskannya leukosit ke dalam kelenjar susu sebagai respon atas invasi bakteri pada saluran puting susu. Bakteri ini berkembang dan menghasilkan toksin yang menyebabkan gangguan pada jaringan sekresi susu dan berbagai saluran pada seluruh kelenjar susu. Peningkatan leukosit atau sel somatik akan menyebabkan penurunan produksi susu dan perubahan komposisi susu. Perubahan ini pada akhirnya akan mempengaruhi kualitas dan kuantitas susu (Jones *et al.*, 1998).

Kegunaan dari *California Mastitis Test* adalah untuk mendeteksi mastitis subklinis, dimana deteksi dapat dilakukan terhadap hasil susu sapi secara individu atau pun untuk seluruh peternakan. Penentuan derajat mastitis ditentukan oleh jumlah sel somatik yang terdapat pada susu. Sel somatik terdiri dari dua tipe. Pertama leukosit, merupakan sel darah putih yang berfungsi sebagai fagosit

terhadap bakteri. Peningkatan jumlah leukosit menandakan terjadinya infeksi. Kedua adalah sel epitel atau " *damaged milk cell* ", merupakan sel yang secara normal membantu memproduksi susu. Ketika infeksi mastitis terjadi, sel ini berhenti memproduksi susu dikarenakan terjadi infeksi. Penentuan derajat mastitis dengan penghitungan jumlah sel somatik harus mencakup keduanya yaitu penghitungan leukosit dan sel epitel (Pamela dan Douglas, 2002).

Penelitian ini dilakukan pada 45 sampel susu yang diperiksa di lapangan dan menunjukkan hasil positif mastitis. Dari 45 sampel tersebut terdiri dari 14 sampel dengan derajat trace atau ragu – ragu, 11 sampel dengan derajat positif 1, 10 sampel dengan derajat positif 2, dan 10 sampel dengan derajat positif 3. Jumlah bakteri yang tumbuh pada masing – masing derajat mengalami penurunan dengan meningkatnya derajat mastitis. Pada derajat *trace* jumlah bakterinya adalah 40.060.000 CFU, pada derajat positif 1 jumlah bakterinya adalah 19.175.000 CFU, pada derajat positif 2 jumlah bakterinya adalah 8.345.000 CFU, dan derajat positif 3 dengan jumlah bakteri 3.400.000 CFU.

Semakin rendahnya jumlah bakteri pada derajat mastitis yang semakin tinggi disebabkan oleh proses fagositosis yang dilakukan oleh leukosit. Fagositosis adalah proses penelanan dan pemusnahan bahan – bahan asing termasuk bakteri. Beberapa sel yang bisa melakukan fagositosis diantaranya adalah leukosit polimorfonuklear (granulosit) dan monosit atau makrofag. Leukosit polimorfonuklear yang berperan dalam memfagosit bakteri adalah neutrofil. Leukosit sebagai salah satu sistem pertahanan tubuh akan melakukan proses fagositosis terhadap bahan asing yang masuk ke dalam tubuh termasuk

juga bakteri sehingga semakin tinggi leukosit maka jumlah bakteri menjadi rendah.

Hal ini berbeda dengan pendapat Robert and Admondson (1993), yang menyatakan bahwa semakin tinggi derajat mastitis yang dihasilkan mempunyai arti jumlah leukosit dalam tubuh juga semakin tinggi. Tingginya jumlah leukosit ini menandakan adanya invasi dari bakteri, semakin banyak bakteri yang menginfeksi maka jumlah leukosit yang dihasilkan juga semakin banyak.

Tidak semua peradangan disebabkan oleh bakteri, reaksi *California Mastitis Test* biasanya lemah ketika penyebab dari peradangan tersebut berupa luka – luka. Beberapa tipe bakteri mungkin menginfeksi puting, tetapi *California Mastitis Test* tidak bisa mengidentifikasinya (adanya reaksi negatif atau positif lemah) sedangkan setelah dilakukan penanaman pada media agar terdapat pertumbuhan bakteri, sehingga perlu dilakukan pemeriksaan laboratorium untuk lebih mengantisipasi kejadian tersebut di atas (Robert and Edmondson, 1993).

Jumlah leukosit pada kasus mastitis dipengaruhi oleh rata – rata infeksi dan lama infeksi. Hewan dalam keadaan sehat jumlah leukositnya adalah rendah, pada keadaan positif mastitis tetapi segera terdeteksi dan dilakukan tindakan pengobatan sempurna maka jumlah leukosit akan menjadi rendah, sedangkan pada kasus positif mastitis yang tidak segera diketahui dan dilakukan pengobatan maka jumlah leukosit akan tinggi (Anonimus, 2007).

Potinen (1992), menyatakan bahwa peradangan berkurang ditandai dengan semakin meningkatnya jumlah leukosit yang mengambil bagian penting dalam proses fagositosis.

Hasil analisis korelasi yang dilakukan, menunjukkan bahwa tidak ada korelasi antara derajat mastitis dengan jumlah bakteri yang terkandung dalam susu. Hal ini diketahui dari uji korelasi yang menunjukkan bahwa nilai koefisien korelasi (r) mendekati nol yaitu 0,45.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

Tidak ada hubungan antara derajat mastitis subklinis dengan jumlah bakteri yang terdapat pada susu.

6.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, maka melalui penelitian ini diajukan beberapa saran yaitu :

- Perlu mencari hubungan antara derajat mastitis dengan jumlah leukosit dan jumlah bakteri.
- Dilakukan pemeriksaan laboratorium berupa isolasi dan identifikasi dari sampel yang diperiksa.

RINGKASAN

RINGKASAN

Mastitis atau penyakit radang ambing merupakan masalah utama dalam tatalaksana usaha peternakan sapi perah yang sangat merugikan peternak, karena dapat menurunkan produksi susu dalam jumlah besar dan pengobatan terhadap penyakit ini sulit dilakukan sampai sembuh (tuntas) serta memerlukan biaya yang besar. Jumlah bakteri yang terkandung dalam susu sangat mempengaruhi kualitas susu. Semakin banyak jumlah bakteri maka kualitas susu akan menurun.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ada hubungan antara derajat mastitis yang diuji menggunakan *California Mastitis Test* (CMT) dengan jumlah bakteri yang terkandung dalam susu.

Pemeriksaan mastitis akan menghasilkan lima derajat mastitis yang meliputi: negatif, *trace* (ragu-ragu), positif 1, positif 2, dan positif 3. Penentuan derajat ini berdasarkan pada proses pembentukan gel selama 10 detik, semakin kuat gel yang terbentuk maka derajat mastitisnya akan semakin tinggi. Kuatnya gel yang terbentuk menandakan tingginya kandungan leukosit dalam susu. Leukosit dalam susu meningkat sebagai respon atas adanya invasi bakteri dalam ambing atau puting. Leukosit menjalankan tugasnya sebagai fagosit dengan memakan dan menghancurkan bakteri atau benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Semakin tinggi bakteri atau benda asing yang ada di dalam tubuh maka tubuh juga akan mengeluarkan leukosit dalam jumlah yang banyak pula.

Penelitian ini mempunyai dua tahap pengerjaan, yang pertama adalah pemeriksaan derajat mastitis di kandang dan penghitungan jumlah bakteri di

laboratorium. Pada pemeriksaan derajat mastitis, dua milliliter sampel susu dicampur dengan reagen *California Mastitis Test* sama banyak. Kemudian digoyang secara horisontal perlahan-lahan, derajat mastitis dibaca sebelum 20 detik. Pada penghitungan jumlah bakteri, masing-masing sampel susu diencerkan terlebih dahulu menggunakan NaCl 0.9% dengan tingkat pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-8} serta mempunyai satu kontrol yang hanya berisi pengencer. Setelah diencerkan maka sampel ditanam pada nutrient agar dan dinkubasi selama 24-48 jam.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 45 sampel susu positif mastitis. 14 sampel mempunyai derajat *trace* dengan jumlah bakteri 40.060.000 CFU; 11 sampel mempunyai derajat positif 1 dengan jumlah bakteri 19.175.000 CFU; 10 sampel dengan derajat positif 2 mempunyai jumlah bakteri 8.345.000 CFU; dan 10 sampel dengan derajat positif 3 mempunyai jumlah bakteri 3.400.000 CFU.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi derajat mastitis yang dihasilkan oleh reagen California Mastitis Test (CMT) maka jumlah bakteri yang terkandung dalam susu semakin rendah. Hasil ini berbeda dengan pendapat Robert dan Edmondson (1993), yang menyatakan bahwa semakin tinggi derajat mastitis yang dihasilkan mempunyai arti bahwa jumlah leukosit dalam tubuh juga semakin tinggi. Tingginya jumlah leukosit ini menandakan adanya invasi dari bakteri, semakin banyak bakteri yang menginfeksi maka jumlah leukosit yang dihasilkan tubuh juga semakin banyak. Rendahnya jumlah bakteri pada derajat mastitis yang semakin tinggi disebabkan oleh adanya proses fagositosis yang

dilakukan oleh leukosit dan juga adanya runtuh sel yang ikut bereaksi dengan reagen *California Mastitis Test* sehingga menyebabkan terbentuknya gel. Oleh karena itu, dalam melakukan diagnosis mastitis perlu disertai dengan pemeriksaan laboratoris berupa isolasi dan identifikasi bakteri untuk memperkuat hasil.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 1995. *Petunjuk Praktis Beternak Sapi Perah*. Cetakan I. Penerbit Kanisius (Anggota IKAPI). Yogyakarta.
- Anonimus. 1996. *The National Mastitis Council and USDA. US. Milk Quality and Monitoring Using Bulk Tank Somatic Cell Count*. Center for Epidemiology and Animal Health. Fort Collins, CO.
- Anonimus. 2000. *Beternak Sapi Perah*. Edisi ke-16. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Aurora, Agatha. 2001. *Kejadian Mastitis Subklinis pada Tiga Lokasi Peternakan Sapi Perah di Surabaya Selatan*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Blood, D.C. and Henderson, J. A. 1983. *Veterinary Medicine*. Second ed. The Williams and Wilkins Company. Baltimore. 341-378.
- Bodman, G. R., Duane N. Rice. 1995. *Mastitis is a Disease-Control is an Everyday Task*. University of Nebraska-Lincoln and the United States Departement of Agriculture.
- Browning, J. W., G. A. Mein., P. Brightling., T. J. Nicholls and M. Barton. 1994. *Strategies for Mastitis Control: Dry Cow Therapy and Culling*. Australian Veterinary Journal. 71 (6): 179-181.
- Buckle, K. A., R. A. Edwards., G. H. Fleet and M. Wootton. 1987. *Ilmu Pangan*. Alih Bahasa oleh H. Purnomo dan Adiono. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Budiarto., *et al.* 2006. *Analisa Kualitas Susu dan Daging*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Ditjen Peternakan. 1983. *Syarat-Syarat, Tata Cara Pengawasan dan Pemeriksaan Kualitas Susu Produksi Dalam Negeri*. SK Dirjen Peternakan No. Kpts/DJP/Deptan/83 tertanggal 19 Januari 1983.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 118-126.
- Foley, R. C. 1973. *Dairy Cattle: Principles, Practice, Problems, Profit*. 1st Edition. W. B. Saunders Company. Philadelphia.

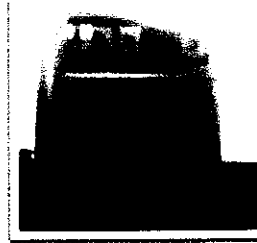
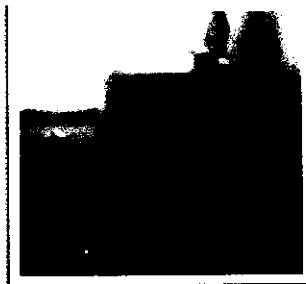
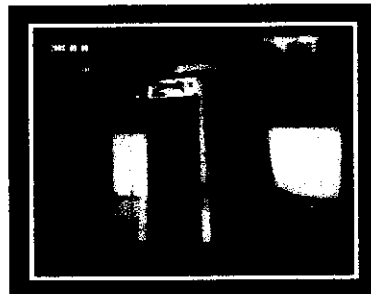
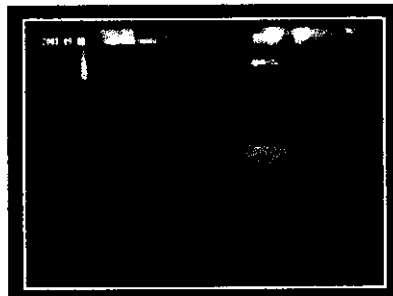
- Hurley, W. L. and D. E. Morin. 2002. Mastitis Lesson A & B. Departement of Animal Science and Departemant of Clinical Veterinary Medicine. University of Illinois. Urbana-Champaign.
- Ingalls, W. 2000. What is Relationship Between Mastitis and Milk Quality?. West Agro, Inc., Kansas City, MO.
- Jones, G.M., R. E. Pearson, G. A. Clabaugh, and C. W. Heald. 1984. Relationship between Somatic Cell Counts and Milk Production. *J. Dairy Sci.* 67:1823-1831.
- Jones, G. M. 1998. Understanding The Basics of Mastitis. *J. Dairy Sci.* 233-404.
- Marshall, Robert T., J. E. Edmondson. 1993. Using The California Mastitis Test. Departement of Food Science and Nutrition . Barry Steevens Departement of Animal Science.
- National Mastitis Council. 1996. Current Concepts of Bovine Mastitis, 4th ed Arlington, VA.
- Ostensson, K. 1993. Total and Differential Leukocyte Count, N. Acetylt-B-D-Glucosaminidase Activity, and Serum Albumin Content in Foremilk and Residual Milk During Endotoxin-Induced Mastitis in Cow. *Am J Vet Res.* Vol. 54 (42) : 231-238.
- Philpot, W. N. 1984. Mastitis Management. Lousiana State University. Babson Bros Co. USA.
- Rice, D. N. 1981. Using the California Mastitis Test (CMT) To Detect Subclinical Mastitis. Univercity of Nebraska-Lincoln and the United States Departement of Agriculture.
- Rice, D. N., Gerald R. Bodman. 1993. The Somatic Cell Count and Milk Quality. Univercity of Nebraska-Lincoln and the United States Departement of Agriculture.
- Rice, D. N. 1999. Using the California Mastitis Test (CMT) To Detect Subclinical Mastitis. Univercity of Nebraska-Lincoln and the United States Departement of Agriculture.
- Ruegg, P. L., Douglas J. R. 2002. Milk Quality and Mastitis Test. University of Wisconsin Madison.
- Schalm, O. W., E. J. Carrol and N. C. Jain. 1971. Bovine Mastitis. Lea and Febiger. Philadelphia. 1:1-19.

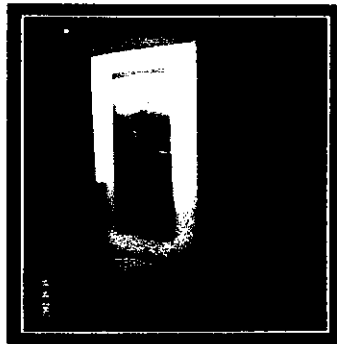
- Subronto. 1989. Ilmu Penyakit Ternak. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sudarwanto, C. S. Leksmono. 1993. Laporan Penelitian Pengembangan Metode dan Pereaksi untuk Deteksi Mastitis Subklinis. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor.
- Sudarwanto, M. 1998. Pereaksi IPB-1 sebagai Pereaksi Alternatif Untuk Mendeteksi Mastitis Subklinis. Media Veteriner. Institut Pertanian Bogor.
- Widayanti, W. W. 2001. Evaluasi Total Bakteri dan Salmonella Sp. Pada Udang Windu dari Pasar di Kotamadya Surabaya. (Skripsi). Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.

LAMPIRAN

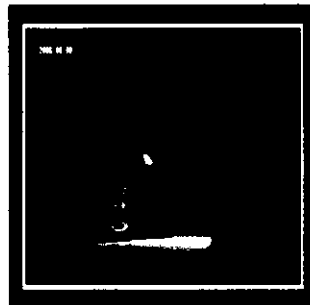
Lampiran 1. Diagram Alur Penelitian



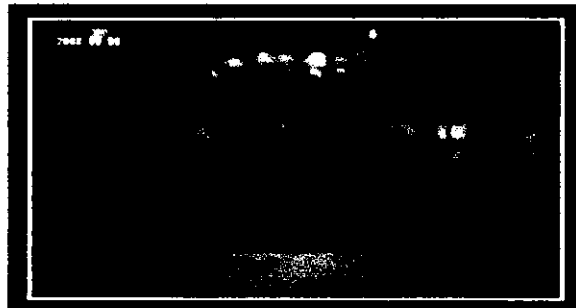
Lampiran 2. Alat-alat yang digunakan**Gambar 2. 1. Inkubator****Gambar 2. 2. Autoclave****Gambar 2. 3. Rotator****Gambar 2. 4. Timbangan "OHAUS"**



Gambar 2. 5. Refrigerator



Gambar 2. 6. Pain pipet 20 µl (yellow tube)

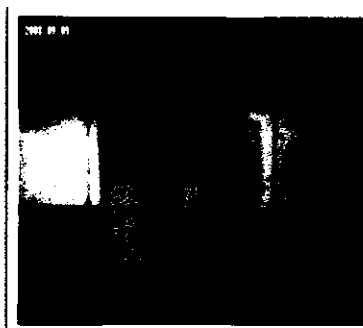


Gambar 2. 7. Peralatan pengenceran dan penanaman sampel susu

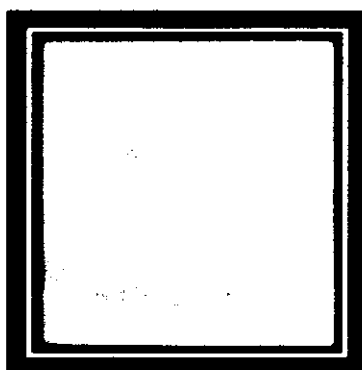
Luampiran 3. Bahan-bahan penelitian



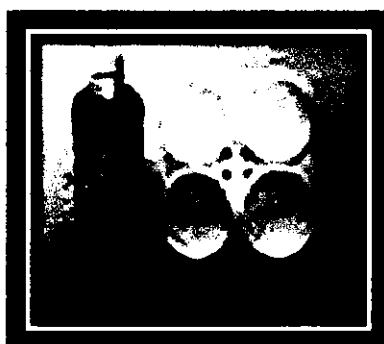
Gambar 3. 1. Nutrient Agar



Gambar 3. 2. Natrium Clorida

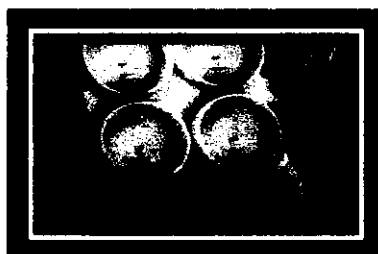


Gambar 3. 3. Sampel susu

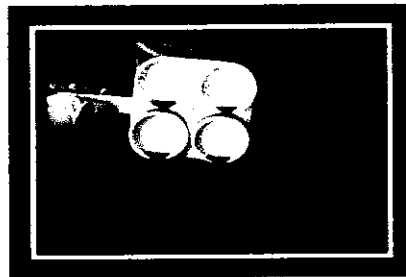


Gambar 3. 4. Reagen *California Mastitis Test* dan *Paddle*

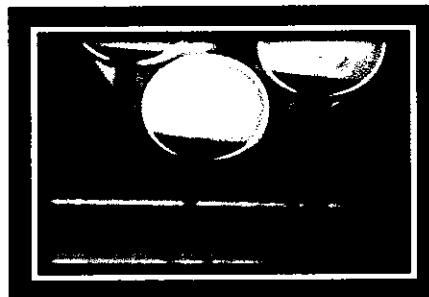
Lampiran 4. Hasil penelitian



Gambar 4. 1. Derajat mastitis negatif



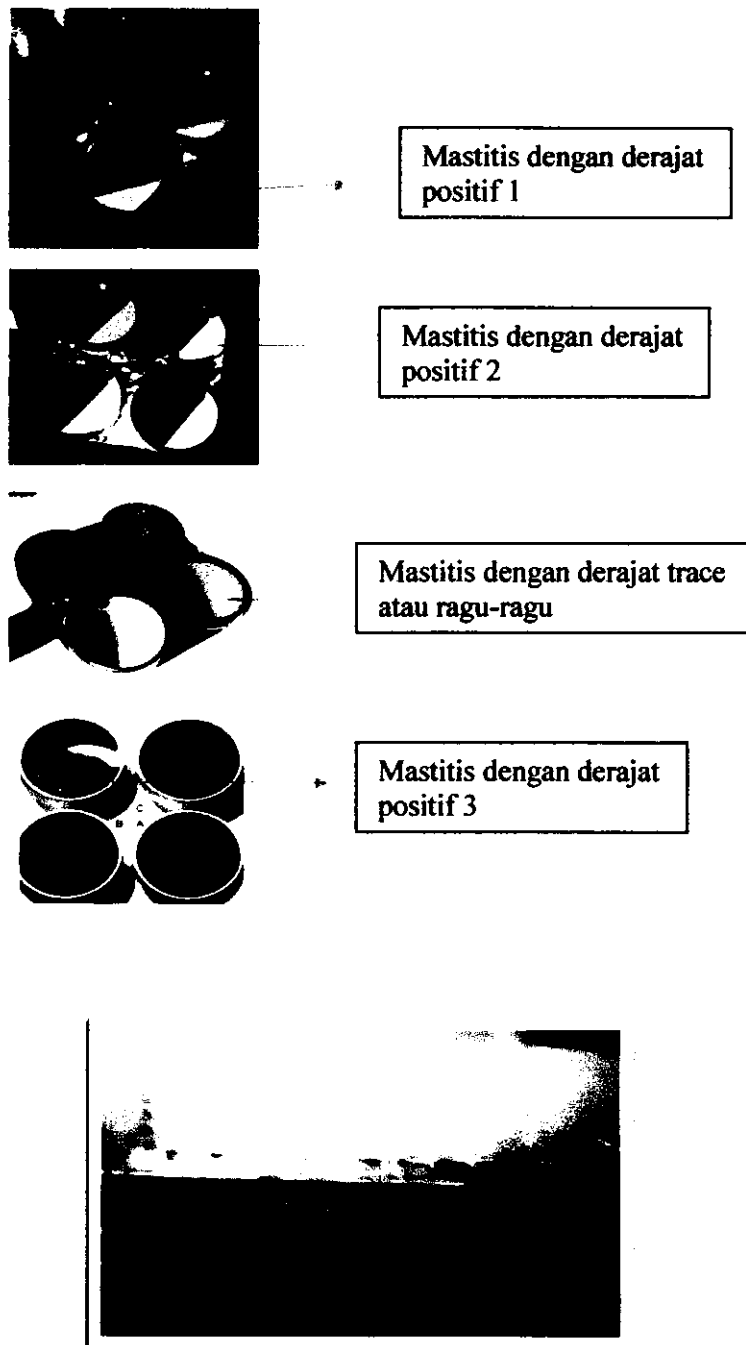
Gambar 4. 2. Derajat mastitis *trace*



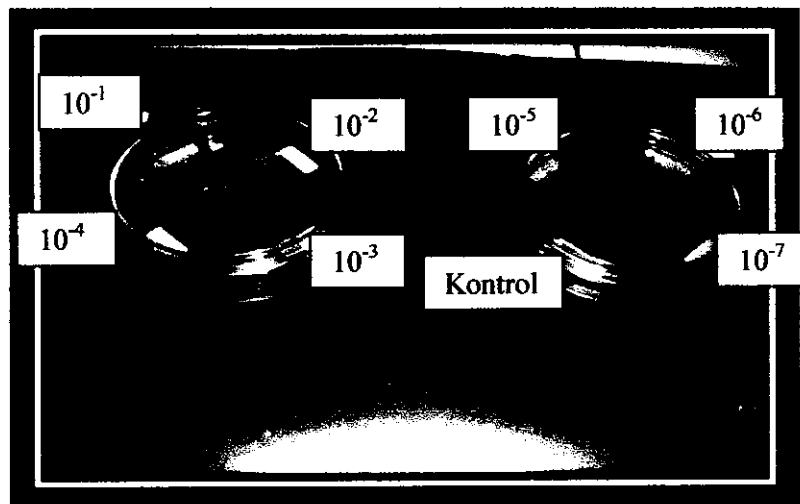
Gambar 4. 3. Derajat mastitis positif 1



Gambar 4. 4. Mastitis derajat positif 2



Gambar 4. 5. Pengenceran sampel 10^{-1} - 10^{-7} dan satu kontrol



Gambar 4. 6. Pertumbuhan bakteri pada nutrient agar

Lampiran 5. Cara kerja Uji *California Mastitis Test* (CMT)

Cara Kerja California Mastitis Test (CMT)

Reagen :

Alkyl Aryl Sulfonate 3 %

NaOH 1,5 %

Broom Cresol Purple 1:10.000

Prosedur :

Susu dipancarkan langsung (fore milk) dari tiap kuartir ambing sesuai dengan tanda masing-masing kuartir, sebanyak dua mililiter. Untuk membuang kelebihan susu maka *paddle* diletakkan secara vertikal. Ke dalam *paddle* ditambahkan reagen CMT sama banyak. Setelah itu *paddle* digoyang-goyang secara teratur pada bidang horisontal secara perlahan-lahan. Kemudian hasil dapat dibaca sesuai tabel berikut ini dalam 10 detik.

Lampiran 6. Penghitungan koefisien korelasi**Tabel 4. 1. Hasil uji mastitis subklinis dan penghitungan jumlah bakteri**

Tanggal Pemeriksaan	No. Sapi	Derajat Mastitis Subklinis	Jumlah Bakteri / ml susu (CFU)
11 Juni '08	931	Positif 1	6.500.000
	932	Positif 3	300.000
	964	Positif 3	250.000
	996	Positif 2	400.000
	3611	Positif 2	2.500.000
	959	Positif 1	1.000.000
	997	Trace	0
	911	Positif 2	0
	936	Positif 1	0
18 Juni '08	995	Trace	0
	955	Positif 2	1.400.000
	912	Positif 2	0
	962	Trace	1.000.000
	925	Positif 1	2.000.000
	996	Trace	1.500.000
	986	Positif 1	0
	3623	Trace	3.000.000
	926	Trace	3.500.000
	917	Positif 2	1.000.000

Tanggal Pemeriksaan	No. Sapi	Derajat Mastitis Subklinis	Jumlah Bakteri / ml susu (CFU)
	923	Positif 1	1.000.000
	985	Trace	7.500.000
	903	Positif 1	5.000.000
	943	Trace	3.000.000
	964	Positif 3	250.000
	998	Trace	7.000.000
	901	Trace	2.500.000
	922	Positif 2	2.000.000
15 Juli '08	934	Positif 1	25.000
	949	Positif 2	800.000
	3664	Positif 2	55.000
	928	Positif 1	150.000
	983	Positif 2	40.000
	989	Trace	2.500.000
	978	Positif 2	150.000
	3674	Trace	7.500.000
	924	Trace	60.000
	993	Positif 1	3.500.000
24 September '08		Positif 3	400.000
		Positif 3	250.000

Tanggal Pemeriksaan	No. Sapi	Derajat Mastitis Subklinis	Jumlah Bakteri / ml susu (CFU)
		Positif 3	300.000
		Positif 3	300.000
		Positif 3	300.000
		Positif 3	450.000
		Positif 3	600.000

Skor	Jumlah Sampel	Jumlah Bakteri / ml susu (CFU)	Rata-rata jumlah Bakteri
1	14	40.060.000	2.861.428
2	11	19.175.000	1.743.181
3	10	8.345.000	834.500
4	10	3.400.000	340.000

	X	Y	X ²	Y ²	XY
	1	40,06	1	1.604,8	40,06
	2	29.175	4	367,68	38,35
	3	8,345	9	69,64	25,035
	4	3,4	16	11,56	13,6
Total	10	70,98	30	2.053,68	117,045
Rata-rata	2,5	1,58			

$$\begin{aligned}\Sigma (x - \bar{x})(y - \bar{y}) &= \Sigma xy - \frac{\Sigma x \cdot \Sigma y}{n} \\ &= 117,045 - \frac{10 \cdot 70,98}{45} \\ &= 117,045 - 15,77 \\ &= 101,275\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\Sigma (x - \bar{x})^2 &= \Sigma x^2 - \frac{(\Sigma x)^2}{N} \\ &= 30 - \frac{100}{45} \\ &= 27,78\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\Sigma (y - \bar{y})^2 &= \Sigma y^2 - \frac{(\Sigma y)^2}{N} \\ &= 2.053,68 - \frac{5.038,16}{45} \\ &= 2.053,68 - 111,96 \\ &= 1.830,72\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}r &= \frac{\Sigma (x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\{\Sigma (x - \bar{x})^2\} \{\Sigma (y - \bar{y})^2\}}} \\ &= \frac{101,275}{\sqrt{\{27,78\} \{1.830,72\}}} \\ &= \frac{101,275}{225,516} \\ &= 0,45\end{aligned}$$

Jadi tidak ada hubungan antara derajat mastitis dengan jumlah bakteri yang terkandung dalam susu.

Keterangan:

x : Skor derajat mastitis subklinis (1, 2, 3, dan 4)

y : jumlah bakteri

n : Jumlah sampel

r : Koefisien korelasi