

SKRIPSI

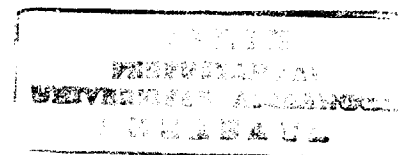
**IDENTIFIKASI *Staphylococcus aureus* PENYEBAB MASTITIS
DENGAN UJI FERMENTASI MANNITOL DAN DETEKSI
PRODUKSI ASETOIN PADA SAPI PERAH DI WILAYAH
KERJA KOPERASI USAHA TANI TERNAK
SUKA MAKMUR GRATI PASURUAN**



Oleh :

LUTHVIN PARAMITHA TIRNATA
NIM 060213061

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2007**



**IDENTIFIKASI *Staphylococcus aureus* PENYEBAB MASTITIS
DENGAN UJI FERMENTASI MANNITOL DAN DETEKSI
PRODUKSI ASETOIN PADA SAPI PERAH DI WILAYAH
KERJA KOPERASI USAHA TANI TERNAK
SUKA MAKMUR GRATI PASURUAN**

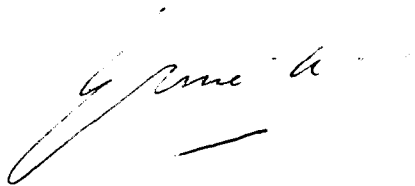
Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

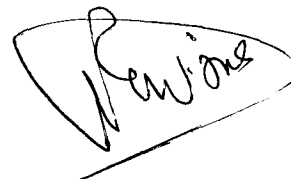
LUTHVIN PARAMITHA TIRNATA
NIM 060213061

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



(Erni Rosilawati Sabar Iman, drh., M.S.)
Pembimbing Pertama



(M. Anam Al-Arif, drh., M.P.)
Pembimbing Kedua

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

Identifikasi *Staphylococcus aureus* Penyebab Mastitis dengan Uji Fermentasi Mannitol dan Deteksi Produksi Asetoin pada Sapi Perah di Wilayah Kerja Koperasi Usaha Tani Ternak Suka Makmur Grati Pasuruan

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, 10 Mei 2007

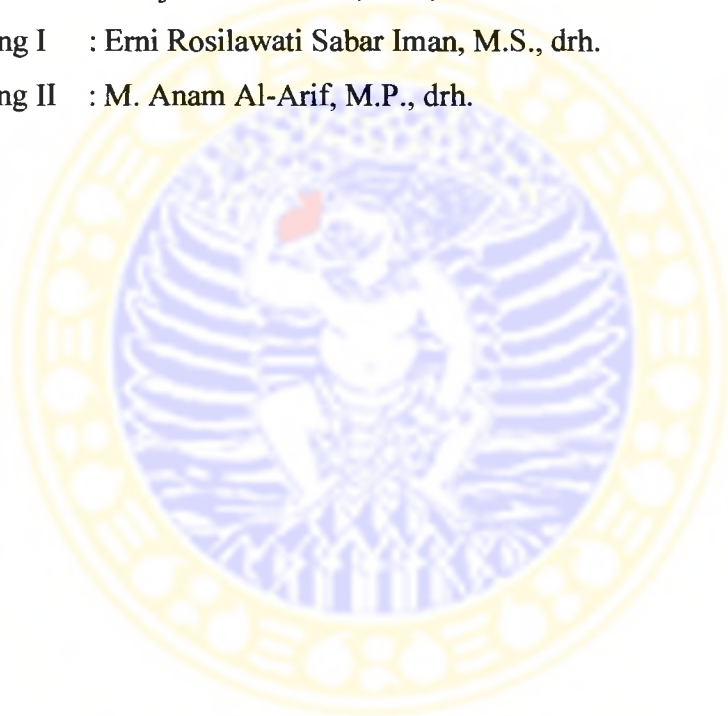
Luthvin Paramitha Tirnata
NIM. 060213061

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 24 Mei 2007

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Suryanie Sarudji, M.Kes., drh.
Sekretaris : Nusdianto Triakoso, M.P., drh.
Anggota : Soetji Prawesthirini, S.U., drh.
Pembimbing I : Erni Rosilawati Sabar Iman, M.S., drh.
Pembimbing II : M. Anam Al-Arif, M.P., drh.



Telah diuji pada

Tanggal : 14 Juni 2007

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Suryanie Sarudji, M.Kes., drh.

Anggota : Nusdianto Triakoso, M.P., drh.

Soetji Prawesthirini, S.U., drh.

Erni Rosilawati Sabar Iman, M.S., drh.

M. Anam Al-Arif, M.P., drh.

Surabaya, 14 Juni 2007

Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., drh.

NIP. 130 687 305

IDENTIFICATION OF *Staphylococcus aureus* WHICH CAUSES MASTITIS WITH MANNITOL FERMENTATION TEST AND DETECTION OF ACETOIN PRODUCT IN DAIRY CATTLE AT THE FARM AREA OF SUKA MAKMUR DAIRY COOPERATIVE GRATI PASURUAN

Luthvin Paramitha Tirnata

ABSTRACT

The aims of the study were to identify *Staphylococcus aureus* which causes mastitis in dairy cattle at the farm area of Suka Makmur Dairy Cooperative by detecting the acetoin production with *Voges-Proskauer Test* comparing with mannitol fermentation test using *Mannitol Salt Agar*. The non probability sampling was used on this research. Milk samples had been taken as much as 5-10 ml from each quarter of dairy cattle which shown positive according to *California Mastitis Test*. Two hundred bovine milk samples were cultured on *Blood Agar* and *MacConkey Agar* from which 100 (50%) strains were identified as *Staphylococcus sp.* and 26 (13%) were identified as coagulase positive staphylococcus; which were suspected as *Staphylococcus aureus*, whereas 25 strains of them showed the positive result of *Voges-Proskauer Test* and 24 strains showed the positive result of mannitol fermentation on *Mannitol Salt Agar cultured*. The results of the two methods were compared with Nonparametric Tests among which *Chi-square Test* were used. The result showed that there was no difference between the result of *Voges-Proskauer Test* and *Mannitol Salt Agar cultured*, so that *Voges-Proskauer Test* is able to replace *Mannitol Salt Agar cultured* as the common identification method for *Staphylococcus aureus*.

Key words : *Staphylococcus aureus, Staphylococcal Mastitis, Coagulase Test, Mannitol Salt Agar, Acetoin Production.*

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat Tuhan YME atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul **Identifikasi *Staphylococcus aureus* Penyebab Mastitis dengan Uji Fermentasi Mannitol dan Deteksi Produksi Asetoin pada Sapi Perah di Wilayah Kerja Koperasi Usaha Tani Ternak Suka Makmur Grati Pasuruan.**

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., drh. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Ibu Erni Rosilawati Sabar Iman, M.S., drh. selaku dosen pembimbing pertama dan ketua penelitian serta Bapak M. Anam Al-Arif, M.P., drh. selaku dosen pembimbing kedua atas saran dan bimbingannya sampai dengan selesainya skripsi ini. Bapak Suryanie Sarudji, M.Kes., drh., Bapak Nusdianto Triakoso, M.P., drh., Ibu Soetji Prawesthirini, S.U., drh. selaku dosen penguji yang memberikan saran dan kritik membangun untuk skripsi ini.

Seluruh Staf pengajar fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bekal ilmu selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Seluruh Staf laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bantuan teknik dalam proses penelitian ini.

Seluruh Staf KUTT Suka Makmur, Staf Dinas Peternakan Kabupaten Pasuruan, drh. Yoyok selaku pihak dari PT. Nestle, serta semua pihak terkait di

Pasuruan yang tidak bisa disebutkan namanya satu-persatu atas bantuan teknik dalam proses penelitian ini.

Papa, mama, adik-adikku dan memeku tercinta yang telah memberikan segalanya, bantuan doa, dorongan dan semangat. Teman-teman satu penelitian, Mbak Nyta, Mas Taufik dan Kusuma yang selalu membantu sampai selesainya penelitian. Teman-teman angkatan 2002, serta semua pihak yang tidak bisa disebutkan namanya satu-persatu yang selalu memberikan dukungan.

Penulis juga menyadari bahwa penulisan makalah ini masih jauh dari kesempurnaan, karena itu saran dan masukan dari pembaca diharapkan bisa menjadi bahan pertimbangan untuk mencapai hasil yang lebih baik. Penulis juga berharap agar makalah ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan, khususnya Ilmu Kedokteran Hewan.

Surabaya, Mei 2007

Penulis

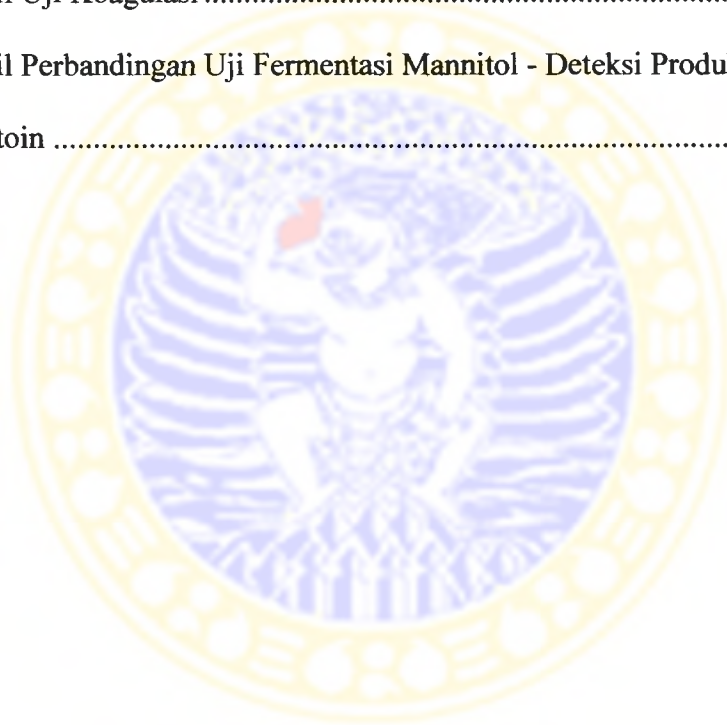
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN	ii
HALAMAN IDENTITAS	iii
ABSTRACT	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Landasan Teori	4
1.4. Hipotesis Penelitian	5
1.5. Tujuan Penelitian	5
1.6. Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.3. Susu	6
2.2. Mastitis	6
2.2.1. Bentuk - Bentuk Mastitis	7
2.2.2. <i>California Mastitis Test</i> (CMT)	8
2.2.3. Faktor - Faktor Penyebab Mastitis	10
2.2.4. Patogenesis Mastitis	11
2.2.5. Diagnosis Mastitis	12
2.3. Uji Katalase	13
2.4. Uji Koagulasi	14
2.5. Uji Fermentasi Mannitol	15
2.6. Deteksi Produksi Asetoin	16
2.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	18
2.4.1. Taksonomi dan Klasifikasi	18
2.4.2. Karakter Fenotipik pada <i>S. aureus</i>	19
2.4.3. Resistensi	20
2.4.4. Struktur Antigen, Toksin dan Enzim	20
2.4.5. Patogenitas	24
BAB 3 MATERI DAN METODE	25
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	25
3.2. Materi Penelitian	25
3.2.1. Bahan Penelitian	25
3.2.2. Alat Penelitian	26

3.3. Metode Penelitian	27
3.3.1. Cara Pengambilan Sampel	27
3.3.2. Metode <i>California Mastitis Test</i>	28
3.3.3. Isolasi dan Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	29
3.3.3.1. Penanaman pada BA	30
3.3.3.2. Penanaman pada MCA	30
3.3.3.3. Pemeriksaan mikroskopis – pewarnaan Gram	31
3.3.3.4. Uji katalase	32
3.3.3.5. Uji koagulasi	32
3.3.3.6. Uji Fermentasi Mannitol	32
3.3.3.7. Deteksi Produksi Asetoin	33
3.4. Peubah yang Diamati	34
3.5. Analisis Data	34
3.6. Kerangka Operasional Penelitian	35
 BAB 4 HASIL PENELITIAN	 36
4.1. <i>Staphylococcal Mastitis</i>	36
4.2. Perbandingan Antara Hasil Deteksi Produksi Asetoin terhadap Uji Fermentasi Mannitol	39
 BAB 5 PEMBAHASAN	 41
 BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	 51
6.1. Kesimpulan	51
6.2. Saran	51
 RINGKASAN	 53
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	62

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Kriteria Interpretasi Reaksi CMT	9
4.1. Hasil Isolasi Bakteri Susu Berdasarkan Adanya <i>Staphylococcus sp.</i>	36
4.2. Hasil Identifikasi <i>Staphylococcus sp.</i> Berdasarkan	
Hasil Uji Koagulasi	38
4.3. Hasil Perbandingan Uji Fermentasi Mannitol - Deteksi Produksi	
Asetoin	40



DAFTAR GAMBAR


Gambar	Halaman
2.1. Struktur kelenjar ambing	11
2.2. Perkembangan mastitis dan pertahanan sapi terhadap infeksi	12
2.3. Reaksi Katalase Positif	14
2.4. Uji Koagulasi Positif	15
2.5. Fermentasi Mannitol pada MSA	16
2.6. Skema Uji VP	17
2.7. Pembentukan Asetoin pada Uji VP	17
2.8. Pewarnaan Gram Positif <i>S. aureus</i>	19
2.9. Warna Koloni Stafilocokus pada BA	20
2.10. Koloni Muda <i>S. aureus</i> dengan β -hemolisis pada BA	22
2.11. Skema determinan virulensi dari <i>S. aureus</i>	23

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Pengamatan di Lapangan	63
2. Gambar Hasil Reaksi CMT	71
3. Cara Pembuatan <i>Blood Agar</i> (BA)	72
4. Cara Pembuatan <i>MacConkey Agar</i> (MCA)	73
5. Gambar Cara Isolasi Bakteri dengan <i>Streak</i>	74
6. Gambar Bahan Penelitian	74
7. Cara Pembuatan <i>Nutrient Agar</i> (NA)	75
8. Cara Pewarnaan Gram	76
9. Gambar Skema Proses Pewarnaan Gram	77
10. Hasil Isolasi Primer Bakteri Susu	78
11. Gambar Hasil Isolasi Primer, Uji Katalase dan Pewarnaan Gram	83
12. Cara Pembuatan Plasma Darah	84
13. Cara Pembuatan <i>Mannitol Salt Agar</i> (MSA)	85
14. Cara Pembuatan <i>VP Medium</i>	86
15. Hasil Identifikasi <i>Staphylococcus sp.</i>	87
16. Uji <i>Chi-square</i>	90
17. Gambar Hasil Uji Koagulasi, Uji Fermentasi Mannitol dan Deteksi Produksi Asetoin	91
18. Hasil Perbandingan Uji Koagulasi, Uji Fermentasi Mannitol dan Deteksi Produksi Asetoin	92
19. Hasil Uji <i>Chi-square</i>	93
20. Gambar Hasil Pengamatan dan Proses Penelitian	94

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

Daftar Singkatan:



BA	: Blood Agar
Balitvet	: Balai Penelitian Veteriner
CMT	: California Mastitis Test
CNS	: Stafilkokus Koagulase Negatif (Coagulase Negative Staphylococcus)
Dkk	: dan kawan-kawan
DN-ase	: Deoxyribonuclease
H ₂ O	: Air
H ₂ O ₂	: Hidrogen Peroksida
KaB	: Kuartir kanan belakang
KaD	: Kuartir kanan depan
KiB	: Kuartir kiri belakang
KiD	: Kuartir kiri depan
KOH	: Kalium Hidroksida
KUTT	: Koperasi Usaha Tani Ternak
MCA	: MacConkey Agar
MSA	: Mannitol Salt Agar
N	: Negatif
NA	: Nutrient Agar
NaCl	: Natrium Klorida
O ₂	: Oksigen
T	: Trace
VP	: Voges Proskauer

Daftar Arti Lambang:

α	: alfa
β	: beta
δ	: delta
$^{\circ}\text{C}$: derajat Celcius
+/-	: ditambah/dikurangi
λ	: gamma
\pm	: kira-kira
\leq	: kurang dari atau sama dengan
$>$: lebih besar dari
μm	: mikrometer
ml	: milliliter
-	: negatif, minus
%	: persen
+	: positif

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Mastitis merupakan penyakit yang sering terjadi pada sapi perah dan menyebabkan kerugian ekonomi yang sangat besar bagi peternakan sapi perah di seluruh dunia (Ruegg, 2001; Bannerman *and* Wall, 2005). Kerugian ekonomi yang diakibatkan oleh mastitis, terutama mastitis subklinis, meliputi penurunan produksi dan mutu susu, peningkatan biaya perawatan dan pengobatan, pengafkiran ternak lebih awal serta pembelian sapi perah baru (Subronto, 2003). Penurunan mutu susu disebabkan perubahan komposisi susu berupa penurunan kadar lemak dan laktosa susu serta peningkatan jumlah bakteri susu dan *Somatic Cell Count* (SCC) (Kloos *and* Lambe, Jr., 1991; Andrews, 2000).

Data Dinas Peternakan (2006) menyatakan populasi sapi perah di kabupaten Pasuruan pada tahun 2005 adalah 43.378 ekor, populasi sapi perah terbesar kedua di Jawa Timur setelah Malang. Berdasarkan hasil survei Aksan dan Pahlevi (2006) prevalensi kasus mastitis klinis di kecamatan Grati kabupaten Pasuruan pada tahun 2005 adalah 7,2%, sedangkan kasus mastitis subklinis tidak terdata sebab peternak tidak melaporkan terjadinya mastitis subklinis. Mastitis subklinis yang terjadi hanya ditandai dengan terjadinya penurunan produksi dan mutu susu di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati Pasuruan. Penurunan produksi dan mutu susu menyebabkan harga susu yang disetorkan peternak menjadi turun, dan juga dapat menyebabkan

ditolaknyanya susu dari peternak oleh koperasi sehingga susu harus dibuang sebab tidak layak untuk dikonsumsi (Kloos *and* Lambe, Jr., 1991; Andrews, 2000; Subronto, 2003).

Salah satu penyebab utama mastitis pada sapi perah adalah *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (Twomey *et al.*, 2000; Purnomo dkk., 2006). Mastitis yang disebabkan oleh *S. aureus* dapat terjadi secara klinis namun seringkali terjadi secara subklinis dan menahun (Jones *et al.*, 1998; Dodd *and* Booth, 2001; Malinowski, 2002; Bannerman *and* Wall, 2005).

Identifikasi untuk membedakan antara *S. aureus* dengan stafilocokus lainnya merupakan faktor utama sebagai salah satu langkah dalam penanganan kasus mastitis, dimana cara yang dilakukan sebagian besar masih bergantung atas dasar kriteria fenotipik yang tampak (Boerlin *et al.*, 2003; Purnomo dkk., 2006), antara lain meliputi morfologi pertumbuhan koloni, uji katalase untuk membedakan dari streptokokus, adanya produksi enzim koagulase serta adanya fermentasi mannitol pada *Mannitol Salt Agar* (MSA) (Beishir, 1991; Fox, 2000; Cappucino *and* Sherman, 2005).

Faktor patogenitas *S. aureus* berhubungan dengan adanya produksi enzim koagulase, yang membedakan *S. aureus* dari stafilocokus lainnya (Levinson *and* Jawetz, 2003; Bello *and* Qahtani, 2004), selain itu *S. aureus* dibedakan dengan adanya fermentasi mannitol pada MSA (Fox, 2000; Sari, 2003). *S. aureus* juga dapat diisolasi dengan media selektif seperti *Baird Parker Agar*, *lipase salt mannitol agar*, *DNase Test* (Kloos *and* Lambe, Jr., 1991; Roberson *et al.*, 1994; Bello *and* Qahtani, 2004). Penggunaan media

selektif sangat berguna untuk mengisolasi *S. aureus* dari sampel yang terkontaminasi, namun menjadi tidak ekonomis sebab tidak bisa mendeteksi bakteri lain sedangkan beberapa media umum secara rutin telah digunakan untuk membedakan *S. aureus* dari stafilocokus lainnya (Boerlin *et al.*, 2003).

Penggunaan MSA juga tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membedakan *S. aureus* dengan stafilocokus spesies lainnya sebab *S. intermedius* juga memfermentasi mannitol pada MSA meski dengan reaksi yang lambat (*delayed reaction*) (Timoney *et al.*, 1988). Menurut Kloos and Lambe, Jr. (1991) serta Quinn *et al.* (2002) *S. aureus* juga dapat dibedakan dengan adanya produksi aseton yang dapat diketahui melalui uji *Voges-Proskauer* (VP).

Identifikasi *S. aureus* dengan menggunakan metode yang mudah, cepat, ekonomis dan dapat dipercaya menjadi sangat penting untuk membatasi penyebaran penyakit mastitis (Boerlin *et al.*, 2003).

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan permasalahan yaitu :

1. Bagaimanakah gambaran kasus mastitis pada beberapa peternakan sapi perah di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati Pasuruan, khususnya yang disebabkan oleh *S. aureus*?
2. Adakah perbedaan antara identifikasi *S. aureus* dengan deteksi produksi aseton terhadap uji fermentasi mannitol?

3. Apakah identifikasi *S. aureus* dengan mendeteksi produksi asetoin dapat menggantikan uji fermentasi mannitol?

1.3. Landasan Teori

Mastitis merupakan radang ambing yang dapat berlangsung secara klinis maupun subklinis (Wattiaux, 1996; Schroeder, 1997), disebabkan masuknya bakteri ke dalam ambing melalui kanal puting, berkembang biak dan merusak lapisan pembuluh serta alveoli dalam ambing (Garcia, 2004).

S. aureus merupakan bakteri patogen yang paling sulit untuk diatasi karena mudah menyebar dengan cepat antar ternak (Soltys and Quinn, 1999), oleh karena itu infeksi *S. aureus* menjadi sumber utama infeksi dalam peternakan (Jones and Bailey, Jr., 1998). Tingkat kejadian infeksi *S. aureus* dalam suatu peternakan dapat mencapai 30-35% (Jones and Bailey, Jr., 1998; Subronto, 2003).

Produksi asetoin dari glukosa merupakan alternatif ciri khas yang sangat berguna untuk membedakan *S. aureus* dari spesies stafilocokus koagulase positif yang lain seperti *S. intermedius* serta beberapa strains koagulase positif *S. hycus*, selain itu juga bersifat lebih ekonomis bila dibandingkan dengan penggunaan media selektif (Kloos and Lambe, Jr., 1991; Koneman *et al.*, 1992; Quinn *et al.*, 2002).

1.4. Hipotesis Penelitian

1. Terdapat kasus mastitis klinis dan subklinis pada beberapa peternakan sapi perah di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati Pasuruan.
2. Identifikasi *S. aureus* dengan cara deteksi adanya produksi asetoin tidak berbeda bila dibandingkan dengan uji fermentasi mannitol.
3. Identifikasi *S. aureus* dengan deteksi adanya produksi asetoin dapat menggantikan uji fermentasi mannitol.

1.5. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan identifikasi *S. aureus* penyebab mastitis pada beberapa peternakan sapi perah di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati Pasuruan dengan cara deteksi adanya produksi asetoin dibandingkan dengan uji fermentasi mannitol pada MSA.

1.6. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat :

1. Memberikan gambaran kasus mastitis yang terjadi pada beberapa peternakan sapi perah di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati Pasuruan, khususnya yang disebabkan oleh *S. aureus*.
2. Memberikan informasi baru tentang cara identifikasi *S. aureus*.
3. Menjadi masukan dan dipakai sebagai salah satu langkah dalam penanganan mastitis khususnya pada beberapa peternakan sapi perah di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati Pasuruan.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Susu

Susu adalah cairan yang mengandung lemak, protein, laktosa, berbagai jenis garam, asam sitrat dan beberapa vitamin yang dihasilkan dari ambing seekor sapi yang sehat. Kelenjar ambing terdiri atas empat bagian disebut kuartir, yang terbentuk dari jaringan ikat, jaringan lemak dan jaringan penghasil susu (jaringan *alveoli*). Sebagian ambing bisa lebih banyak terdiri dari jaringan lemak dan jaringan ikat sedangkan yang lain lebih banyak jaringan alveolinya sehingga tidak ada hubungan antara besarnya ukuran ambing dengan banyaknya produksi susu yang dihasilkan (Gabungan Koperasi Susu Indonesia, 1995).

Komposisi susu normal mengandung air sebesar 86,6%, bahan kering 13,4%, yang terbagi menjadi lemak (3-8%), protein (3-5%), laktosa (4,7%) dan mineral sebesar 0,8%, dengan berat jenis rata-rata 1,032 serta titik bekunya - 0,531 ($\pm 0,008$)⁰ C. Apabila titik beku makin mendekati titik beku air (0⁰ C) berarti susu tersebut banyak mengandung air (Gabungan Koperasi Susu Indonesia, 1995).

2.2 Mastitis

Mastitis adalah suatu proses peradangan pada ambing yang sering terjadi dan merupakan penyakit yang sangat merugikan pada peternakan sapi

perah di seluruh dunia (Cassel, 1993; Andrews, 2000; Dodd *and* Booth, 2001; Bannerman *and* Wall, 2005). Wattiaux (1996) dan Schroeder (1997) menyatakan mastitis sebagai radang kelenjar ambing yang disebabkan mikroorganisme, terutama bakteri, yang menyerang ambing, berkembang biak dan memproduksi toksin yang berbahaya bagi kelenjar ambing. Subronto (2003) juga menyebutkan mastitis sebagai suatu proses peradangan pada ambing yang dapat berlangsung secara akut, subakut maupun kronis yang ditandai dengan kenaikan jumlah sel dalam susu, perubahan fisik maupun susunan susu, disertai atau tanpa disertai perubahan patologis atas kelenjarnya sendiri.

2.2.1. Bentuk - Bentuk Mastitis

Mastitis berdasarkan gejalanya terbagi atas mastitis klinis dan mastitis subklinis (Wattiaux, 1996; Schroeder, 1997; Ruegg, 2001). **Mastitis klinis** merupakan bentuk mastitis dengan dapat ditemukannya gejala-gejala klinis pada ambing maupun pada susu, dapat diketahui antara lain dengan melakukan pemeriksaan fisik pada ambing dan susu. Pemeriksaan fisik ambing dilakukan dengan palpasi dan inspeksi ambing. Suhu, konsistensi ambing dan ada tidaknya abnormalitas pada ambing maupun pada puting harus diperhatikan. Pemeriksaan fisik susu dilakukan menggunakan *strip cup* untuk mengetahui ada tidaknya perubahan warna pada susu karena adanya

gumpalan darah, serpihan-serpihan sel dan nanah (Dodd *and* Booth, 2001; Subronto, 2003).

Mastitis klinis berdasarkan derajat keparahannya dibagi menjadi, **mastitis perakut** yaitu jika terjadi peradangan yang disertai reaksi sistemik, **mastitis akut** yaitu jika terjadi peradangan tanpa disertai reaksi sistemik, **mastitis subakut** yaitu jika terjadi peradangan ringan disertai abnormalitas pada susu, sedangkan **mastitis kronis** yaitu jika terjadi peradangan dengan sedikit perubahan pada susu (Subronto, 2003; Rosilawati, 2006).

Mastitis subklinis merupakan bentuk mastitis dimana tidak terdapat perubahan fisiologis pada ambung maupun pada susu, sehingga hanya dapat diketahui dengan pemeriksaan laboratorium (Andrews, 2000), antara lain dengan *Whiteside Test*, *California Mastitis Test* (CMT), *Wisconsin Mastitis Test* (WMT) (Dodd *and* Booth, 2001; Subronto, 2003; Rosilawati, 2006), yang kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan biokimiawi dan mikrobiologis susu (Cassel, 1993; Quinn *et al.*, 2002).

2.2.2. *California Mastitis Test* (CMT)

CMT merupakan cara terbaik untuk mengetahui secara dini adanya kasus mastitis terutama mastitis subklinis (Marshall *et al.*, 1993), dan merupakan cara yang pelaksanaannya mudah, cepat serta ekonomis (Garcia, 2004).

Prinsip dari CMT adalah susu yang berasal dari sapi penderita mastitis bila dibandingkan dengan susu normal akan bersifat lebih alkalis dan mengandung lebih banyak sel-sel leukosit, sel-sel bakteri dan sel-sel epitel kelenjar ambing, dimana apabila dicampur dengan reagen CMT akan menyebabkan terbentuknya gumpalan dan intensitas reaksi ini berkaitan dengan jumlah total sel leukosit (Marshall *et al.*, 1993).

Interpretasi reaksi yang tampak pada penggunaan CMT untuk mendeteksi mastitis subklinis dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Kriteria Interpretasi Reaksi CMT (Marshall *et al.*, 1993; Subronto, 2003; Garcia, 2004).

Simbol	Arti	Reaksi yang Tampak
-	Negatif	Campuran tetap cair, tidak ada reaksi kekentalan.
T	Trace	Ada kekentalan lemah di dasar wadah yang cenderung hilang bila wadah terus diputar.
+1	Positif Lemah	Ada kekentalan ringan namun cenderung tidak membentuk gel dan akan hilang bila wadah diputar lebih dari 20 detik.
+2	Positif Nyata	Campuran mengental dan cenderung membentuk gel yang bergerak dan menempel di tengah-tengah wadah saat wadah diputar.
+3	Positif Kuat	Terbentuk gel yang permukaannya nampak cembung seperti kuning telur dan tetap terlihat meski wadah tidak diputar.

Keuntungan penggunaan CMT antara lain reaksi radang pada ambing dapat diketahui sedini mungkin sehingga pemeriksaan laboratorium terhadap ambing yang terinfeksi serta pengobatan secara cepat, tepat dan efektif dapat segera dilakukan, kerusakan ambing

dapat dicegah serta berkurangnya susu yang harus dibuang akibat rusak (Marshall *et al.*, 1993).

2.2.3. Faktor - Faktor Penyebab Mastitis

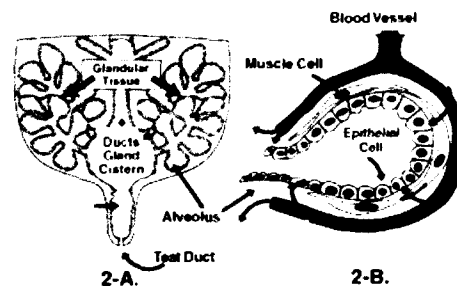
Mastitis berdasarkan penyebabnya dibagi menjadi, mastitis kontagius (*contagious mastitis*) yaitu mastitis yang bersumber dari ambing yang terinfeksi dan menyebar ke ambing sehat selama proses pemerahan, mastitis ini pada umumnya disebabkan oleh *S. aureus* dan *Str. agalactiae*, sedangkan mastitis lingkungan (*environmental mastitis*) merupakan mastitis yang bersumber dari lingkungan dimana sapi tersebut hidup, menyebar ke sapi melalui kontak puting terhadap alas kandang, lumpur, kotoran dan pupuk yang ada di sekitar sapi, yang terjadi secara langsung maupun tidak langsung, umumnya disebabkan oleh *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter*, *Str. uberis* dan *Str. dysgalactiae* (Schroeder, 1997; Andrews, 2000; Ruegg, 2001; Quinn *et al.*, 2002; Garcia, 2004). Cassel (1993) serta Dodd and Booth (2001) menambahkan adanya mastitis yang disebabkan oleh bakteri yang merupakan flora normal pada puting dan jarang sekali menyebabkan kasus mastitis klinis, bakteri penyebabnya disebut *minor pathogens* antara lain *S. epidermidis*, *S. hycus*, *S. intermedius* dan *Corynebacterium bovis*.

2.2.4. Patogenesis Mastitis

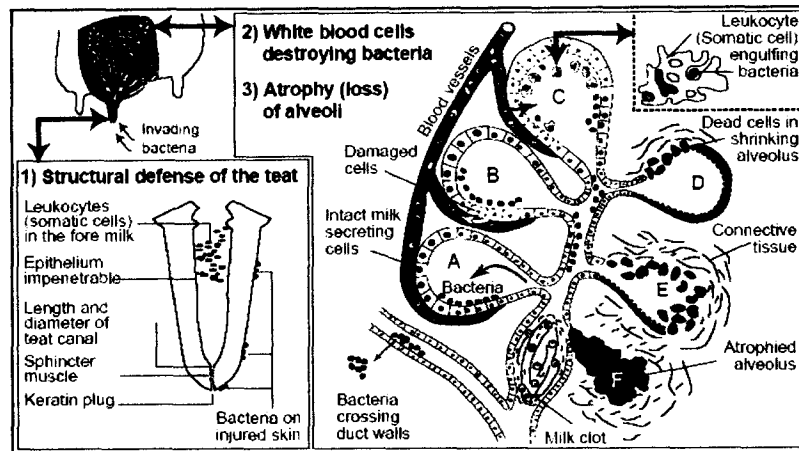
Infeksi dimulai dengan masuknya mikroorganisme ke dalam kelenjar melalui lubang puting (Wattiaux, 1996; Andrews, 2000), kebanyakan terjadi karena terbukanya lubang saluran puting terutama setelah pemerahan. Masuknya bakteri dipermudah oleh keadaan lingkungan yang jelek, tingginya populasi bakteri patogen, adanya lesi pada puting atau apabila kondisi tubuh sapi menurun, misalnya sehabis sakit akibat transportasi atau stres yang lain (Subronto, 2003).

Mikroorganisme akan membentuk koloni setelah berhasil masuk ke dalam kelenjar dan dalam waktu singkat akan menyebar ke lobuli atau alveoli. Saat mikroorganisme sampai di mukosa kelenjar, tubuh akan bereaksi dengan memobilisasi leukosit. Mobilisasi leukosit dipermudah karena kelenjar ambing dialiri darah yang relatif sangat besar jumlahnya.

Berikut ini adalah gambar yang menunjukkan anatomi kelenjar ambing normal sebelum adanya infeksi (Gambar 2.1.), dan gambaran ambing setelah adanya infeksi (Gambar 2.2.).



Gambar 2.1. Struktur kelenjar ambing, menunjukkan puting dan kelenjar sisterna, 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 2.2. Perkembangan mastitis dan pertahanan sapi terhadap infeksi: 1. Pertahanan pada puting, 2. Sel-sel darah putih menghancurkan bakteri, 3. Alveoli mengalami atrofi (pengecilan) (Wattiaux, 1996).

Mikroorganisme pada kelenjar ambing akan mengakibatkan terjadinya perubahan dalam sinus sehingga susu di dalamnya menjadi rusak. Kerusakan susu akan merangsang timbulnya reaksi jaringan dalam bentuk peningkatan sel di dalam susu. Fibrin yang terbentuk akan menyumbat saluran puting dan akhirnya kelenjar mengalami kerusakan jaringan (Subronto, 2003).

2.2.5. Diagnosis Mastitis

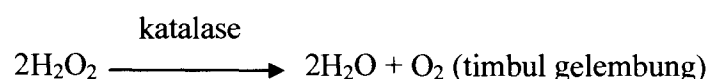
Diagnosa terhadap infeksi *S. aureus* penyebab mastitis pada sapi perah secara garis besar didasarkan pada anamnesa, gejala klinis, perubahan patologi anatomi dan pemeriksaan laboratorium (Cassel, 1993; Subronto, 2003), yang meliputi pemeriksaan komposisi dan mikrobiologis susu (Dodd and Booth, 2001).

Pemeriksaan mikrobiologis susu meliputi isolasi dan identifikasi bakteri penyebab mastitis yang terkandung dalam susu.

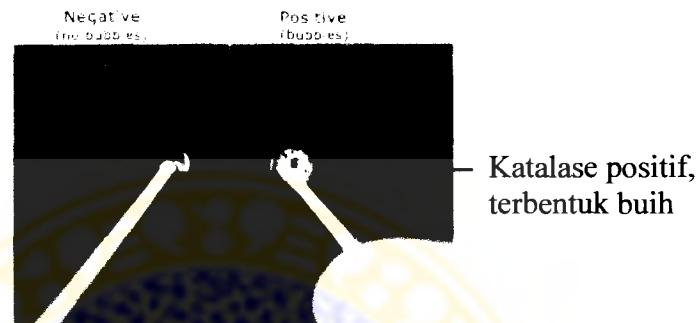
Isolasi bakteri dilakukan dengan penanaman pada media agar. Kriteria identifikasi untuk bakteri stafilocokus meliputi morfologi koloninya baik secara makroskopis dan mikroskopis, kemampuan melisiskan darah pada media *Blood Agar*, tidak tumbuh pada *MacConkey Agar*, kemampuan produksi enzim katalase yang membedakannya dengan streptokokus, kemampuan produksi enzim koagulase, kemampuan fermentasi mannitol pada MSA serta karakter biokimiawi seperti adanya produksi aseton (Pramono, 1987; Kloos and Lambe, Jr., 1991; Koneman *et al.*, 1992; Quinn *et al.*, 2002).

2.3. Uji Katalase

Bakteri memproduksi hidrogen peroksida (H_2O_2) selama proses respirasi aerobik, dimana zat ini bila terakumulasi akan bersifat toksik bagi sel bakteri tersebut (Koneman *et al.*, 1992). Uji katalase digunakan untuk mengetahui adanya enzim katalase yang diproduksi oleh bakteri tertentu untuk mendegradasi H_2O_2 tersebut (Cappucino *and* Sherman, 2005), dimana sebagian besar bakteri aerobik dan fakultatif selain streptokokus menunjukkan adanya aktivitas katalase (Koneman *et al.*, 1992). Uji katalase pada umumnya digunakan untuk membedakan spesies stafilocokus dengan streptokokus (Fox, 2000; Cappucino *and* Sherman, 2005), dimana menurut Koneman *et al.* (1992) dasar uji ini adalah:



Berikut ini adalah gambaran uji katalase bila terjadi reaksi katalase positif dimana *S. aureus* dapat memproduksi enzim katalase yang akan mendegradasi H_2O_2 membentuk air dan O_2 yang berupa gelembung udara (gambar kanan), seperti terlihat pada Gambar 2.3. berikut ini:

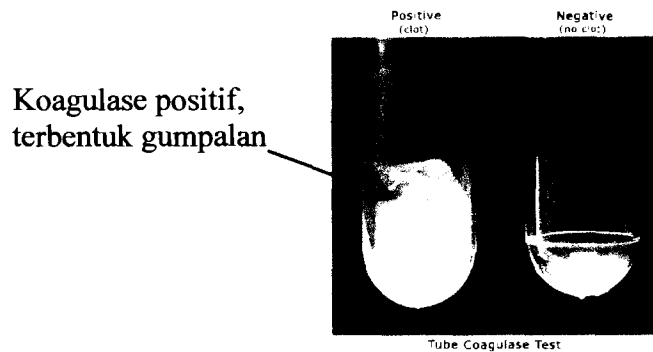


Gambar 2.3. Reaksi Katalase Positif (Cmgn, 2007).

2.4. Uji Koagulasi

Koagulase merupakan enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri, terutama *S. aureus*, yang dapat mengubah fibrinogen menjadi fibrin dan selanjutnya menyebabkan penggumpalan fibrin pada plasma darah (Beishir, 1991; Cappucino and Sherman, 2005). Reaksi ini terjadi karena enzim bereaksi dengan substansi plasma (*coagulase reacting factor*) membentuk kompleks, dimana selanjutnya bereaksi dengan fibrinogen membentuk gumpalan fibrin (Koneman *et al.*, 1992; Fox, 2000).

Berikut ini adalah gambaran uji koagulase bila terjadi koagulase positif pada *S. aureus* yang memproduksi enzim koagulase sehingga dapat mengubah fibrinogen menjadi fibrin dan membentuk gumpalan fibrin dalam plasma darah kelinci, seperti terlihat pada Gambar 2.4. berikut ini:



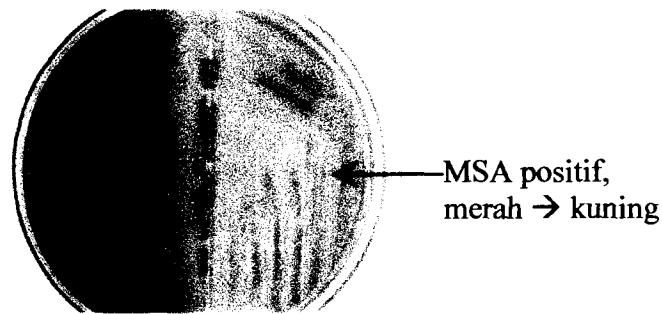
Gambar 2.4. Uji Koagulase Positif (Cmgn, 2007).

2.5. Uji Fermentasi Mannitol

Identifikasi antar stafilocokus didasarkan atas kemampuannya untuk memfermentasi mannitol (Cappucino *and* Sherman, 2005). *S. aureus* dapat memfermentasi mannitol membentuk asam yang akan terlarut dalam *Mannitol Salt Agar* (MSA) dan mengubah *phenol red* dalam media dari merah menjadi kuning (Beishir, 1991; Koneman *et al.*, 1992).

MSA merupakan media selektif untuk isolasi stafilocokus dan untuk memisahkan stafilocokus dari kultur bakteri kontaminan (Koneman *et al.*, 1992; Fox, 2000). Komposisi terpenting dalam MSA antara lain 7,5% NaCl, mannitol dan *phenol red* (indicator pH). Kandungan kadar garam (NaCl) yang tinggi (7,5%) dalam MSA akan menghambat pertumbuhan bakteri lain selain stafilocokus, sebab stafilocokus mampu bertahan dan tumbuh pada media dengan kadar garam yang tinggi (Beishir, 1991; Cappucino *and* Sherman, 2005).

Berikut ini merupakan gambaran MSA yang telah ditanami *S. aureus* dan tampak terjadinya fermentasi mannitol pada MSA (Gambar 2.5.):



Gambar 2.5. Fermentasi Mannitol pada MSA (Cmgm, 2007).

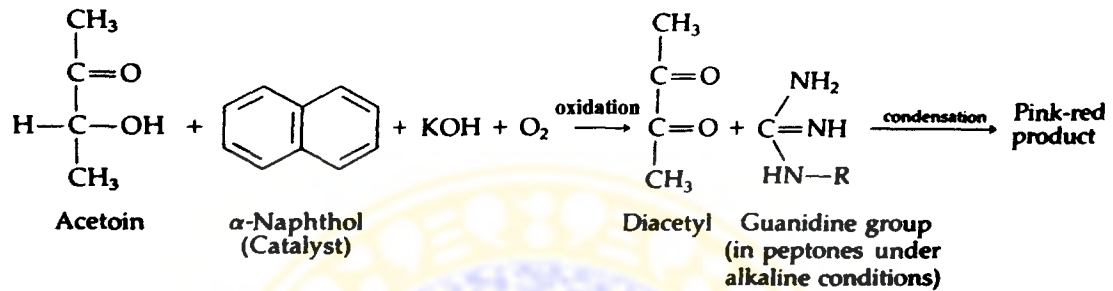
2.6. Deteksi Produksi Asetoin

Sebagian besar bakteri memproduksi asam organik (misal, asam laktat), gas hidrogen dan karbondioksida sebagai hasil fermentasi monosakarida (glukosa), disakarida (sukrosa) atau polisakarida (selulosa) oleh bakteri (Johnson *and* Case, 1995). Proses fermentasi dapat menghasilkan bermacam-macam produk akhir, tergantung pada substrat, lama inkubasi dan organisme itu sendiri, dimana terkadang dapat terbentuk sejumlah besar asam sedangkan lainnya mayoritas membentuk produk netral (Koneman *et al.*, 1992; Johnson *and* Case, 1995).

Asetoin (*acetyl methyl carbinol*) merupakan produk netral dari fermentasi karbohidrat oleh mikroorganisme prokariotik dan eukariotik (Min *et al.*, 1999). Asetoin dapat dideteksi dengan melakukan uji *Voges-Proskauer* (VP) (Kloos *and* Lambe, Jr., 1991; Johnson *and* Case, 1995).

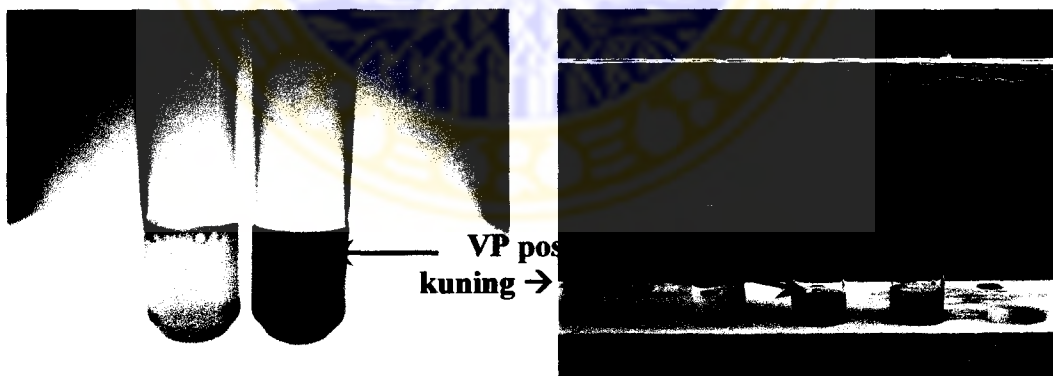
Uji VP digunakan untuk membedakan antara organisme yang menghasilkan asam dalam jumlah yang besar dan yang menghasilkan *nonacidic* atau produk netral seperti *acetyl methyl carbinol* (asetoin) dari hasil metabolisme glukosa, dan adanya kandungan asetoin yang diproduksi

dalam larutan ditandai dengan perubahan warna larutan dari kuning menjadi merah muda hingga merah tua (Koneman *et al.*, 1992; Cappucino *and* Sherman, 2005). Berikut ini adalah skema terbentuknya warna merah pada uji VP (Gambar 2.6.):



Gambar 2.6. Skema Uji VP (Johnson *and* Case, 1995; Cappucino *and* Sherman, 2005).

Berikut ini merupakan gambaran media VP yang telah ditanami *S. aureus* dan tampak terbentuknya asetoin yang ditandai warna merah pada media VP (Gambar 2.7.):



Gambar 2.7. Pembentukan Asetoin pada Uji VP (Thompson, 2004).

2.7. *Staphylococcus aureus*

2.7.1. Taksonomi dan Klasifikasi

Bakteri *S. aureus* berdasarkan rekomendasi dari *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd edition* (MicrobeWiki, 2006) diklasifikasikan sebagai berikut:

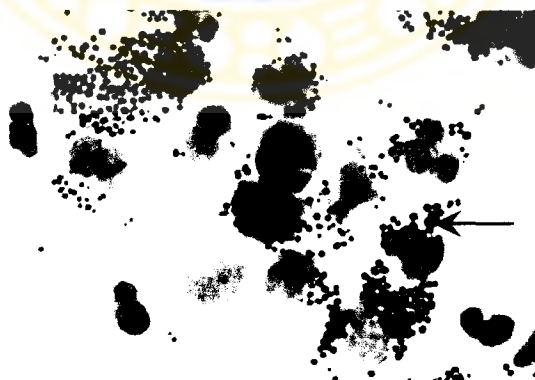
Super kingdom : *Prokaryota*
Kingdom : *Bacteria*
Phylum : *Firmicutes*
Kelas : *Bacilli*
Ordo : *Bacillales*
Famili : *Staphylococcaceae*
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

Kebanyakan strain-strain yang diisolasi dari infeksi stafilocokus memproduksi pigmen kuning keemasan, sehingga organisme tersebut dinamakan *Staphylococcus aureus* untuk membedakannya dari stafilocokus yang kurang atau tidak patogen yang biasanya memiliki koloni-koloni berwarna putih. Produksi pigmen merupakan ciri pembawaan (sifat) dari stafilocokus namun korelasinya dengan patogenitas masih belum jelas. Fungsi tersebut telah digantikan oleh hasil uji koagulasi yang merupakan salah satu kriteria yang paling berguna untuk mengidentifikasi *S. aureus* (Willet, 1992).

2.7.2. Karakter Fenotipik pada *S. aureus*

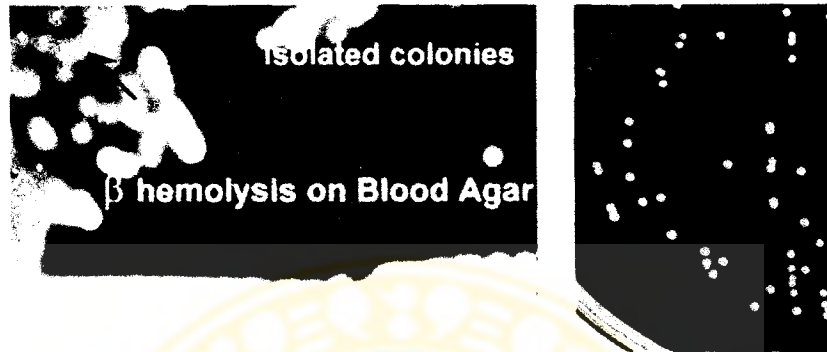
S. aureus merupakan bakteri Gram positif, sel berbentuk bulat (*kokkos*) sempurna dengan diameter 0,8-1 μm yang tersusun bergerombol tidak beraturan menyerupai buah anggur (*staphyle*) (Gambar 2.8.), katalase positif, koagulase positif, koloni berwarna kuning keemasan (Gambar 2.9.), hemolisis pada media *Blood Agar* (BA), oksidase negatif, anaerob fakultatif (Beishir, 1991; Quinn *et al.*, 2002), *non motil*, tidak membentuk spora, tidak berkapsul, dapat memfermentasi glukosa terutama membentuk asam laktat, dapat tumbuh pada suhu 15-45⁰ C dan dalam media dengan konsentrasi NaCl hingga 15% (Arbuthnott, 1992; Todar, 2005). *S. aureus* yang ditanam pada media cair akan tampak secara tunggal atau berpasangan (Timoney *et al.*, 1988).

Berikut ini merupakan gambaran *S. aureus* bila dilakukan pewarnaan Gram:



Gambar 2.8. Pewarnaan Gram Positif *S. aureus* (Todar, 2005).

Koloni *S. aureus* jika ditanam pada BA akan berwarna kuning (gambar kiri), sedangkan koloni *S. epidermidis* berwarna putih (gambar kanan), seperti terlihat pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9. Warna Koloni Stafilokokus pada BA (Johnson, 2001; Cmgn, 2007).

2.7.3. Resistensi

S. aureus relatif tahan terhadap pemanasan (Jawetz *et al.*, 2001), namun tidak tahan terhadap pemanasan dengan sinar matahari langsung dan *S. aureus* dapat terbunuh bila terpapar bahan kimia seperti larutan formaldehid 10% selama 10 menit, phenol 1% selama 35 menit, phenol 2% selama 15 menit, HgCl₂ 0,5% selama satu jam serta larutan gentian violet dengan konsentrasi 1 : 25000 akan membunuh sel bakteri dalam waktu 5-10 menit (Merchant *and* Packer, 1971).

2.7.4. Struktur Antigen, Toksin dan Enzim

Bagian utama dari dinding sel *S. aureus* antara lain protein A, asam teikoat, ribitol dan peptidoglikan (Timoney *et al.*, 1988). Protein

A merupakan protein utama dalam dinding sel *S. aureus*, menjadi faktor virulensi yang penting (Koneman *et al.*, 1992; Levinson and Jawetz, 2003), sebab bersifat antifagosit dan dapat memfiksasi komplemen (Timoney *et al.*, 1988). Komponen lainnya yakni asam teikoat yang menjadi perantara bagi *S. aureus* untuk menempel pada sel mukosa (Koneman *et al.*, 1992), sedangkan peptidoglikan dari *S. aureus* menghasilkan zat seperti endotoksin yang dapat menstimulasi makrofag untuk memproduksi *cytokine* yang mengaktifasi enzim koagulase (Levinson and Jawetz, 2003).

S. aureus juga menghasilkan beberapa enzim dan toksin ekstraseluler yang berperan penting sebagai faktor patogenesis penyakit. Toksin yang dihasilkan antara lain enterotoksin, *toxic shock syndrome toxin*, hemolisin, *exfoliatin* toksin serta leukosidin (Timoney *et al.*, 1988; Koneman *et al.*, 1992; Quinn *et al.*, 2002; Levinson and Jawetz, 2003).

Enterotoksin merupakan *heat-stable* toksin yang tahan bila dipanaskan hingga 100⁰ C selama beberapa menit (Arbuthnott, 1992), penyebab diare akut dan *vomit* berkaitan dengan terjadinya *food poisoning* oleh *S. aureus* (Wellstood, 1992; Tortora *et al.*, 2001). Enterotoksin bisa didapatkan dalam susu yang terkena mastitis oleh *S. aureus* sehingga bisa menyebabkan keracunan pada manusia maupun pedet yang meminumnya (Sanders, 1992; Purnomo dkk, 2006).

Toxic Shock Syndrome Toxin (TSST) dapat menyebabkan penyakit multisistemik dengan gejala-gejala klinis seperti demam, *erythroderma*, hipotensi, *vomit*, diare, gagal ginjal (Koneman *et al.*, 1992), syok (Wellstood, 1992), hingga kematian (Tortora *et al.*, 2001). Strain *S. aureus* pada manusia dan sapi memproduksi TSST-1 (Quinn *et al.*, 2002).

Hemolisin pada *S. aureus* terdiri atas hemolisin alfa, beta, gamma dan delta (Jawetz *et al.*, 2001). λ -hemolisin menghasilkan hemolisis yang sangat lemah bahkan tidak terjadi hemolisis, α -hemolisin dapat melisiskan sel darah merah kelinci serta domba secara sempurna di sekeliling koloni *S. aureus* yang ditanam pada BA. β -hemolisin tidak dapat melisiskan sel darah merah secara sempurna pada temperatur 37⁰ C, namun setelah disimpan pada suhu 4-15⁰ C hemolisis yang tidak sempurna tersebut menjadi sempurna sehingga disebut hemolisis panas-dingin (*hot-cold* hemolisis) (Timoney *et al.*, 1988; Koneman *et al.*, 1992; Quinn *et al.*, 2002), seperti terlihat pada Gambar 2.10.

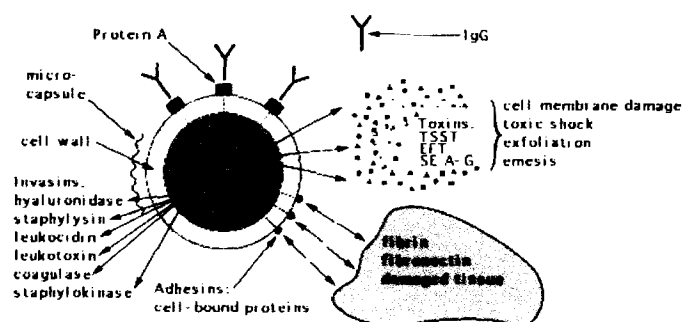


Gambar 2.10. Koloni Muda *S. aureus* dengan β -hemolisis pada BA (Cmgm, 2007).

Exfoliatin toksin merupakan toksin yang menyebabkan peradangan pada kulit disebut *scalded-skin syndrome* (Tortora *et al.*, 2001; Quinn *et al.*, 2002). Leukosidin dapat menyebabkan degranulasi leukosit (Timoney *et al.*, 1988; Levinson *and* Jawetz, 2003), degranulasi sitoplasma sehingga terjadi pembengkakan hingga lisisnya sel (Koneman *et al.*, 1992).

S. aureus juga menghasilkan enzim-enzim ekstraseluler seperti enzim katalase, koagulase, hyaluronidase, fibrinolisin, lipase, protease dan deoxyribonuclease (DN-ase) (Levinson *and* Jawetz, 2003). Enzim koagulase dapat mengubah fibrinogen menjadi fibrin sehingga terjadi penggumpalan plasma dan melindungi *S. aureus* dari fagositosis (Quinn *et al.*, 2002), sehingga bakteri ini dapat tumbuh subur dalam serum dan tahan terhadap bahan-bahan yang bersifat antibakterial (Timoney *et al.*, 1988). Enzim hyaluronidase akan menghidrolisis asam hialuronat pada substansi intraseluler jaringan sehingga mempermudah penyebaran infeksi (Koneman *et al.*, 1992).

Berikut ini merupakan gambaran susunan antigen, toksin dan enzim yang dimiliki *S. aureus* (Gambar 2.11.).



Gambar 2.11. Skema determinan virulensi dari *S. aureus* (Todar, 2005).

2.7.5. Patogenitas

Patogenitas *S. aureus* didasarkan atas produksi enzim dan toksin yang dihasilkan sehingga dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang lebih berat (Wellstood, 1992; Subronto, 2003). Kasus infeksi supuratif pada manusia dan hewan sebagian besar dihubungkan dengan terjadinya infeksi *S. aureus* (Quinn *et al.*, 2002). *S. aureus* merupakan flora normal pada kulit serta membran mukosa dari saluran pernafasan dan saluran pencernaan hewan dan manusia (Roberson, 1999), dimana dalam kondisi tertentu bakteri ini dapat bersifat patogen dan menyebabkan infeksi penyakit (Koneman *et al.*, 1992).

S. aureus jika menyebar dalam tubuh akan dapat menyebabkan *pneumonia, osteomyelitis, endocarditis, cystitis, pyelonephritis* hingga *septicemia* (Cappucino and Sherman, 2005), sedangkan pada hewan *S. aureus* dapat menyebabkan mastitis dan dermatitis (Quinn *et al.*, 2002). Enterotoksin stafilokokal dapat menyebabkan keracunan makanan dengan periode inkubasi yang pendek (1-8 jam), ditandai rasa mual, muntah, diare dan tanpa demam (Jawetz *et al.*, 2001).

Furunkel (abses lokal) merupakan salah satu lesi dari *S. aureus*, dimana bakteri berkembang biak dalam folikel rambut, menyebabkan nekrosis pada jaringan setempat, kemudian terjadi koagulasi eritrosit di sekitar lesi dan pembuluh getah bening, proses selanjutnya diikuti terjadinya reruntuhan sel radang dan di pusat lesi akan terjadi pencairan jaringan nekrotik berupa cairan pus (Jawetz *et al.*, 2001).

BAB 3

MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2006 hingga Maret 2007. Isolasi dan identifikasi *S. aureus* penyebab mastitis dilakukan di laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Pengambilan sampel susu sapi perah yang diduga penderita mastitis dilakukan di wilayah kerja KUTT Suka Makmur kecamatan Grati kabupaten Pasuruan, dengan pertimbangan bahwa lokasi termasuk kantong susu yang dekat dari Surabaya dimana sebagian besar mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan jarang melakukan penelitian sejenis di lokasi tersebut.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu yang diambil langsung dari kuartir sapi milik peternak di wilayah kerja KUTT Suka Makmur. Susu ditempatkan di dalam tabung steril yang ditutup kapas kemudian dimasukkan ke dalam termos es dan dibawa ke laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Reagen yang digunakan untuk CMT berasal dari Balai Penelitian Veteriner (Balitvet) Bogor. Reagen disimpan dalam tabung steril.

Bahan yang dipersiapkan untuk identifikasi bakteri susu antara lain *Blood Agar* (Difco), *Mac Conkey Agar* (Difco), *Mannitol Salt Agar* (Difco), *VP Medium* (Difco), reagen VP Test (KOH 40% + α -naphthol 5% dalam *ethanol*), plasma darah kelinci untuk uji koagulasi, larutan H₂O₂ 3% untuk uji katalase, bahan pewarnaan Gram (kristal violet, safranin, lugol, alkohol aseton), air suling, NaCl fisiologis serta minyak emersi untuk pemeriksaan mikroskopis.

3.2.2. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan di lapangan adalah *paddle*, namun pada penelitian ini diganti dengan cawan Petri sebagai wadah susu dari masing-masing kuarter yang akan diuji CMT, tabung reaksi, kapas, es dan termos es untuk menyimpan sampel susu selama perjalanan menuju laboratorium.

Alat yang digunakan dalam uji identifikasi bakteri susu antara lain cawan Petri, *cotton bud*, ose, ose jarum isolat, pembakar Bunsen, inkubator (37⁰ C), tabung reaksi, gelas obyek, gelas penutup, rak tabung reaksi, *rotator*, pipet 1 ml dan 10 ml, gelas ukur, dan mikroskop.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Cara Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari 19 peternakan di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati Pasuruan, antara lain enam peternakan di desa Sumberagung, empat peternakan di desa Trewung, empat peternakan di desa Ranuklindungan serta lima peternakan di desa Pangkringan. Metode penentuan desa dilakukan dengan pertimbangan lokasi merupakan daerah yang padat ternak, mudah dijangkau serta berada di utara, barat, timur dan selatan dari KUTT Suka Makmur. Metode penentuan peternakan dilakukan dengan pertimbangan peternakan tersebut memiliki lebih dari 10 ekor sapi perah dengan lokasi yang mudah dijangkau. Metode ini dilakukan oleh karena keterbatasan informasi serta kesediaan petugas lapangan, keterbatasan waktu dan dana dalam pelaksanaannya mengingat penelitian ini merupakan penelitian kelompok mahasiswa dengan biaya sendiri. Sampel diambil sebanyak 50 sampel dari tiap desa sehingga didapatkan jumlah sampel keseluruhan sebanyak 200 sampel. Pengambilan sampel susu dilakukan pada saat pemerahan siang hari yang dilakukan pukul 13.00 - 16.00.

Pengambilan sampel susu diawali dengan melakukan wawancara sejarah penyakit, pengamatan gejala klinis yang tampak dan bila perlu dilakukan palpasi pada sapi perah yang diduga terkena mastitis, kemudian dilakukan pemeriksaan CMT langsung di tempat

(kandang) dimana sampel susu yang positif CMT akan diambil dan selanjutnya dilakukan pemeriksaan bakteriologis. Pemeriksaan CMT hanya dilakukan pada kuartir yang menunjukkan gejala klinis maupun subklinis yang ditandai dengan penurunan produksi dan mutu susu berdasarkan informasi dari peternak atau pemerah.

Sampel susu diambil sebanyak ± 5 ml dari masing-masing kuartir yang positif CMT dan langsung ditampung dalam tabung reaksi tertutup kapas yang steril dan telah diberi label berisi inisial nama peternak/ kode desa (misal, 2 = Trewung)/ nomor sapi/ asal kuartir (KaD, KiD, KiB, KaB)/ hasil CMT (T, +1, +2, +3), misalnya PT/2/531/KaB/+2. Susu yang telah diperoleh kemudian disimpan dalam termos berisi es, agar suhunya stabil pada $5-10^{\circ}$ C untuk menghindari perkembangbiakan bakteri, hingga tiba di laboratorium.

3.3.2. Metode *California Mastitis Test*

Uji CMT dilakukan dengan pencucian ambing terlebih dahulu dengan air bersih untuk membersihkan ambing dari kotoran-kotoran, seperti sisa-sisa jerami kandang, lumpur, feses, *manure* dan lain-lain, kemudian ambing dibersihkan dengan kain bersih lalu disemprot dengan larutan alkohol 70% (Subronto, 2003).

Susu pancaran pertama dibuang, kemudian pancaran berikutnya sebanyak ± 2 ml susu dimasukkan ke dalam empat cawan petri yang telah diberi kode KaD (kuartir kanan depan), KiD (kuartir

kiri depan), KiB (kuartir kiri belakang) dan KaB (kuartir kanan belakang), kemudian reagen CMT dimasukkan ke dalam masing-masing cawan dengan jumlah yang sama. Cawan dan isinya diputar perlahan secara horizontal segera setelah reagen ditambahkan selama ± 10 detik. Reaksi diamati pada akhir putaran dan nilai-nilai N (negatif), T (Trace), +1, +2 dan +3 digunakan berdasar atas pembentukan gel pada dasar larutan, dimana dinilai negatif bila campuran tetap cair, Trace bila ada kekentalan lemah yang hilang bila cawan diputar, +1 bila ada kekentalan ringan, +2 bila terbentuk gel yang menempel di tengah cawan saat cawan diputar dan +3 bila terbentuk gel yang tetap terlihat meski cawan tidak diputar (Tabel 2.1.). Gumpalan dari jonjot merupakan hasil reaksi antara sel-sel dalam susu dengan reagen, berwarna putih abu-abu dalam larutan yang berwarna ungu (Subronto, 2003).

3.3.3. Isolasi dan Identifikasi *S. aureus*

Kriteria isolasi dan identifikasi *S. aureus* sebagai penyebab penyakit mastitis meliputi morfologi koloninya secara makroskopis dan mikroskopis, kemampuan melisiskan darah pada media BA, tidak tumbuh pada MCA, adanya produksi enzim katalase yang membedakannya dengan streptokokus, adanya produksi enzim koagulase, adanya fermentasi mannitol pada MSA serta karakter biokimiawi seperti adanya produksi asetoin (Pramono, 1987; Quinn

et al., 2002). Penelitian ini dilakukan secara berkelompok sehingga untuk dapat mengidentifikasi bakteri penyebab mastitis selain *S. aureus* digunakan BA sebagai media umum serta MCA sebagai pembanding terhadap bakteri Gram negatif.

3.3.3.1. Penanaman pada BA

Sampel susu dari kuarter yang positif CMT diaduk dengan *rotator* dan ditanam pada BA dengan menggunakan *cotton bud*, kemudian di *streak* secara bertingkat (Lampiran 5.) hingga didapatkan koloni-koloni tunggal yang akan tumbuh setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰ C dan amati zona perubahan warna di sekitar koloni bakteri (Beishir, 1991; Fox, 2000; Staf Pengajar Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi, 2002). *S. aureus* menghasilkan α dan β hemolisis sehingga nampak zona bening di sekeliling koloninya yang menandakan lisisnya eritrosit dalam BA (Quinn *et al.*, 2002) (Gambar 2.10.).

3.3.3.2. Penanaman pada MCA

Sampel susu dari kuarter yang positif CMT diaduk dengan *rotator* dan ditanam pada MCA dengan menggunakan *cotton bud*, kemudian di *streak* secara bertingkat (Lampiran 5.) hingga didapatkan koloni-koloni tunggal yang akan

tumbuh setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰ C. Bakteri stafilokokus termasuk *S. aureus* tidak tumbuh pada MCA (Rosilawati, 2006).

3.3.3.3. Pemeriksaan mikroskopis – pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram diawali dengan meneteskan larutan kristal violet di atas spesimen bakteri yang telah difiksasi pada gelas obyek dan diamkan selama 3 menit, kemudian gelas obyek dicuci dengan air mengalir, selanjutnya larutan lugol ditetaskan hingga menutupi seluruh permukaan spesimen dan diamkan selama satu menit dan dicuci kembali dengan air mengalir, setelah itu alkohol aseton ditetaskan ke atas spesimen untuk melunturkan warna violet (*decolorization*). Struktur sel bakteri Gram positif mempertahankan warna violet ketika dicuci dengan alkohol aseton, sedangkan warna violet pada bakteri Gram negatif akan larut sehingga pada pewarnaan terakhir dengan safranin, bakteri Gram negatif akan mengasorpsi warna merah safranin (Beishir, 1991; Johnson *and* Case, 1995; Cappucino *and* Sherman, 2005) (Gambar 2.8.).

3.3.3.4. Uji katalase

Koloni stafilocokus yang tumbuh pada BA diambil dengan menggunakan ose jarum isolat (*inoculating needle*) dan diletakkan di atas gelas obyek yang bersih, kemudian ditambahkan setetes H₂O₂ di atas koloni dan amati timbul adanya gelembung (pelepasan O₂) (Koneman *et al.*, 1992; Fox, 2000; Cappucino and Sherman, 2005) (Gambar 2.3.).

3.3.3.5. Uji koagulasi

Koloni stafilocokus yang tumbuh pada BA diambil dengan menggunakan ose jarum isolat (*inoculating needle*), kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah berisi plasma darah kelinci (Lampiran 12.), campur hingga rata dan inkubasikan selama 4 hingga 24 jam. Hasil koagulasi positif *S. aureus* ditunjukkan dengan terbentuknya gumpalan, sedangkan disebut stafilocokus koagulasi negatif (CNS) bila setelah 24 jam tidak terjadi penggumpalan (Beishir, 1991; Koneman *et al.*, 1992; Fox, 2000; Cappucino and Sherman, 2005) (Gambar 2.4.).

3.3.3.6. Uji Fermentasi Mannitol

Koloni stafilocokus yang tumbuh pada BA digoreskan (*streak*) pada MSA, kemudian diinkubasi selama

24 jam pada suhu 37⁰ C, apabila bakteri dapat tumbuh dan terjadi fermentasi mannitol maka akan mengubah warna media dari merah menjadi kuning, berarti hasil dinyatakan positif (Beishir, 1991; Fox, 2000; Cappucino *and* Sherman, 2005). *S. aureus* dapat memfermentasi mannitol (Timoney *et al.*, 1988; Cappucino *and* Sherman, 2005) (Gambar 2.5.).

3.3.3.7. Deteksi Produksi Asetoin

Koloni stafilokokus yang tumbuh pada BA diambil dengan menggunakan ose jarum isolat (*inoculating needle*), kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah berisi VP *Medium*, kemudian dicampur rata dan diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 48 jam. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan warna media yang menjadi keruh, kemudian ditambahkan ke dalam tabung *Barritt's reagen*, terdiri atas larutan KOH 40% dalam aquades steril dan α -*naphtol* 5% dalam *ethanol*, yang bertindak sebagai katalis. Larutan yang telah ditambah reagen kemudian dikocok perlahan tiap 3-5 menit dan amati adanya perubahan warna larutan dari kuning menjadi merah muda hingga merah tua yang menunjukkan adanya kandungan asetoin yang diproduksi oleh bakteri dalam larutan (Beishir, 1991; Koneman *et al.*, 1992; Johnson *and* Case, 1995; Cappucino *and* Sherman, 2005) (Gambar 2.7.).

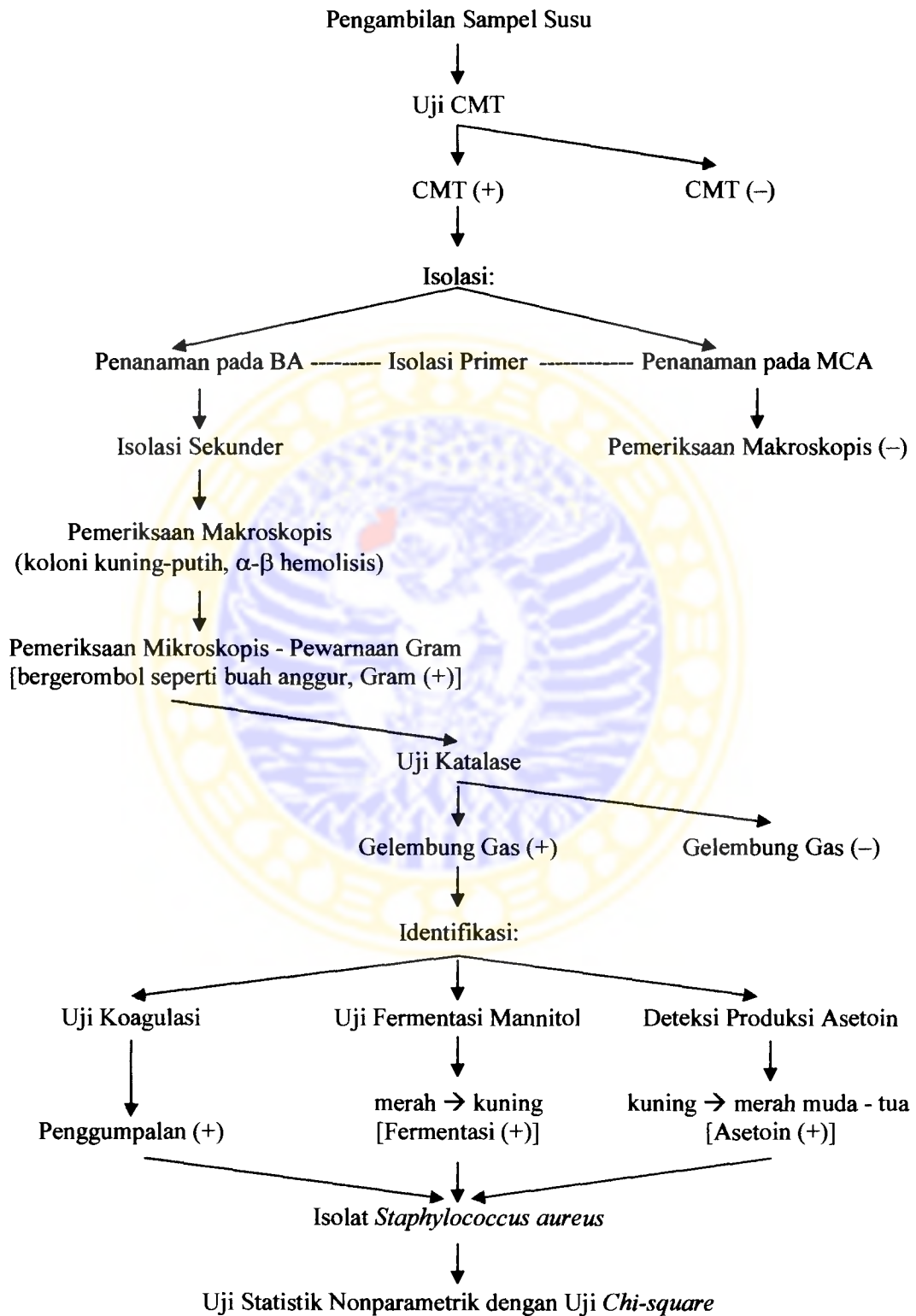
3.4. Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini yaitu interpretasi tingkat reaksi dari uji koagulasi, uji fermentasi mannitol dan deteksi produksi asetoin, dimana koagulase positif bila terbentuk gumpalan dalam cairan plasma darah kelinci, fermentasi positif bila terjadi fermentasi mannitol yang mengubah warna MSA dari merah menjadi kuning, serta asetoin positif bila terbentuk asetoin dalam VP medium yang ditandai perubahan warna media dari kuning menjadi merah muda hingga merah tua setelah penambahan reagen VP.

3.5. Analisis Data

Data hasil isolasi bakteri susu untuk memperoleh gambaran kasus mastitis pada beberapa peternakan di wilayah kerja KUTT Suka Makmur dianalisis secara deskriptif, hasil perbandingan antara uji fermentasi mannitol dan deteksi produksi asetoin dianalisis dengan menggunakan uji *Chi-square*.

3.6. Kerangka Operasional Penelitian



BAB 4

HASIL PENELITIAN

4.1. *Staphylococcal Mastitis*

Berdasarkan hasil penelitian ini diketahui bahwa dari 200 sampel susu yang positif CMT didapatkan 100 (50%) sampel mengandung bakteri stafilocokus, dimana 98 (49%) sampel berasal dari kuarter dengan mastitis subklinis, dan 2 (1%) sampel berasal dari kuarter dengan mastitis klinis yang ditandai dengan asimetris ambing, puting yang mengecil dan produksi susu yang sangat sedikit bahkan terhenti pada kuarter tersebut. Hasil isolasi bakteri susu selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.1. berikut ini:

Tabel 4.1. Hasil Isolasi Bakteri Susu Berdasarkan Adanya *Staphylococcus sp.*

		Negatif	Non <i>Staphylococcus sp.</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>	Total
Jenis Mastitis	Subklinis	26 (13%)	67 (33.5%)	98 (49%)	191
	Klinis	2 (1%)	5 (2.5%)	2 (1%)	9
Total		28	72	100	200

Hasil pengamatan secara makroskopis pada MCA, pewarnaan Gram serta uji katalase yang dilakukan terhadap 100 sampel positif stafilocokus didapatkan semuanya (100%) tidak tumbuh pada MCA, Gram positif dan katalase positif. Stafilocokus tidak memfermentasi laktosa dalam MCA dan cenderung tidak dapat tumbuh pada media MCA, termasuk Gram positif serta katalase positif (Quinn *et al.*, 2002). Gambar hasil uji katalase dan pewarnaan Gram dapat dilihat pada Lampiran 11.

Hasil pengamatan terhadap 100 sampel positif stafilocokus menunjukkan 74 (37%) sampel merupakan stafilocokus koagulase negatif (CNS) dan 26 (13%) sampel merupakan stafilocokus koagulase positif (Tabel 4.2.). Produksi enzim koagulase merupakan faktor patogenitas utama dari *S. aureus* yang membedakan *S. aureus* dari stafilocokus lainnya (Koneman *et al.*, 1992; Fox, 2000; Quinn *et al.*, 2002; Levinson and Jawetz, 2003; Bello and Qahtani, 2004), sehingga 26 sampel stafilocokus koagulase positif yang didapatkan dalam penelitian ini diduga sebagai *S. aureus*.

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan terhadap 26 sampel stafilocokus koagulase positif yang diduga sebagai *S. aureus* menunjukkan 26 (13%) sampel berasal dari kuarter sapi perah dengan mastitis subklinis, dengan 10 (5%) sampel menunjukkan hasil CMT +1, 11 (5,5%) sampel menunjukkan hasil CMT +2 dan 5 (2,5%) sampel menunjukkan hasil CMT +3 (Tabel 4.2.). Gambar hasil reaksi CMT dapat dilihat pada Lampiran 2.

Hasil pengamatan secara makroskopis terhadap 26 sampel stafilocokus koagulase positif yang diduga sebagai *S. aureus* yang diisolasi dari susu dan ditanam pada BA menunjukkan sebagian besar sampel yaitu sebesar 19 (9,5%) sampel koloninya berwarna putih dan hanya 7 (3,5%) sampel yang koloninya berwarna kuning. *S. aureus* juga menghasilkan hemolisin yang dapat melisiskan darah dalam BA (Quinn *et al.*, 2002), dimana dari hasil pengamatan menunjukkan bahwa 12 (6%) sampel tidak menghemolisis eritrosit dalam BA atau bersifat gamma hemolisis (γ -hemolisis), 10 (5%) sampel dapat menghemolisis eritrosit dalam BA secara

sempurna atau bersifat alfa hemolisis (α -hemolisis) dan 4 (2%) sampel bersifat beta hemolisis (β -hemolisis) dimana hemolisis terjadi secara sempurna setelah kultur bakteri disimpan pada suhu 4-15⁰ C (Tabel 4.2.).

Hasil pengamatan juga menunjukkan dari 26 sampel stafilocokus koagulase positif yang diduga sebagai *S. aureus*, hanya 24 (12%) sampel yang dapat memfermentasi mannitol pada MSA dengan membentuk zona kuning pada MSA dan 2 (1%) sampel sisanya tidak dapat memfermentasi mannitol pada MSA, sedangkan hasil deteksi produksi asetoin melalui uji VP yang dilakukan terhadap 26 sampel yang diduga sebagai *S. aureus* tersebut menunjukkan bahwa 25 (12,5%) sampel dapat memproduksi asetoin sebagai hasil fermentasi glukosa, dimana terbentuk warna merah muda hingga merah tua pada larutan media VP dan hanya 1 (0,5%) sampel yang tidak memproduksi asetoin sebagai hasil fermentasi glukosa (Tabel 4.2.). Gambar selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 17.

Tabel 4.2. Hasil Identifikasi *Staphylococcus sp.* Berdasarkan Hasil Uji Koagulase

		Koagulase		Jumlah
		positif	negatif	
Jenis Mastitis	Subklinis	26 (13%)	72 (36%)	98 (49%)
	Klinis	0	2 (1%)	2 (1%)
Jumlah		26	74	100
Hasil CMT	Trace	0	0	0
	+1	10 (5%)	40 (20%)	50 (25%)
	+2	11 (5.5%)	31 (15.5%)	42 (21%)
	+3	5 (2.5%)	3 (1.5%)	8 (4%)
Jumlah		26	74	100

lanjutan...

		Koagulase		Jumlah
		positif	negatif	
Warna Koloni	putih	19 (9.5%)	73 (36.5%)	92 (46%)
	kuning	7 (3.5%)	1 (0.5%)	8 (4%)
Jumlah		26	74	100
Tipe Hemolisis	gamma	12 (6%)	29 (14.5%)	41 (20.5%)
	alfa	10 (5%)	21 (10.5%)	31 (15.5%)
	beta	4 (2%)	24 (12%)	28 (14%)
Jumlah		26	74	100
Fermentasi Mannitol	positif	24 (12%)	25 (12.5%)	49 (24.5%)
	negatif	2 (1%)	49 (24.5%)	51 (25.5%)
Jumlah		26	74	100
Produksi Asetoin	positif	25 (12.5%)	36 (18%)	61 (30.5%)
	negatif	1 (0.5%)	38 (19%)	39 (19.5%)
Jumlah		26	74	100

4.2. Perbandingan Antara Hasil Deteksi Produksi Asetoin terhadap Uji Fermentasi Mannitol

Stafilokokus koagulase positif diduga sebagai *S. aureus*, sebab produksi enzim koagulase merupakan faktor patogenitas utama dari *S. aureus* yang membedakan *S. aureus* dari stafilokokus lainnya (Koneman *et al.*, 1992; Fox, 2000; Quinn *et al.*, 2002; Levinson *and* Jawetz, 2003; Bello *and* Qahtani, 2004), sehingga dalam penelitian ini hanya dipakai 26 sampel stafilokokus koagulase positif yang kemudian dari ke 26 sampel tersebut,

hasil uji fermentasi mannitol dan deteksi produksi asetoin, seperti terlihat dalam Tabel 4.3.

Tabel 4.3. Hasil Perbandingan Uji Fermentasi Mannitol - Deteksi Produksi Asetoin.

	negatif	positif	jumlah
Fermentasi Mannitol	2	24	26
Produksi Asetoin	1	25	26

Hasil perbandingan pada Tabel 4.3. tersebut kemudian dianalisis menggunakan uji *Chi-square* dan diperoleh bahwa tidak ada perbedaan antara hasil deteksi produksi asetoin terhadap hasil uji fermentasi mannitol (χ^2 hitung=0,3537, χ^2 tabel ($\alpha=0,01$; dk=1)=6,6349), namun dengan catatan bahwa hasil uji koagulasi harus positif yang merupakan sifat utama dari *S. aureus* (Koneman *et al.*, 1992; Fox, 2000; Quinn *et al.*, 2002, Levinson and Jawetz, 2003; Bello and Qahtani, 2004). Hasil perhitungan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 19.

Gambar hasil pengamatan dan proses penelitian dapat dilihat pada Lampiran 20.

BAB 5

PEMBAHASAN

Mastitis merupakan penyakit infeksius yang sebagian besar dapat dijumpai pada peternakan sapi perah di seluruh dunia (Quinn *et al.*, 2002). Mastitis disebabkan masuknya mikroba ke dalam ambing melalui lubang puting dan menyebabkan peradangan (Cassel, 1993; Schroeder, 1997; Garcia, 2004).

Hasil pengamatan yang dilakukan terhadap 200 sampel susu yang berasal dari beberapa peternakan sapi perah di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati Pasuruan menunjukkan 28 (14%) sampel tidak mengandung bakteri apapun (Tabel 4.1.), hal ini dapat disebabkan kemungkinan telah dilakukan pengobatan dengan antibiotika sebelum pengambilan sampel (Dodd *and* Booth, 2001). Quinn *et al.* (2002) juga menambahkan penyebab lainnya adalah matinya bakteri seiring proses inflamasi yang berlangsung lama meskipun masih tampak perubahan patologis pada ambing yang terinfeksi, adanya kegagalan isolasi bakteri juga berkaitan erat dengan penggunaan media agar dan metode yang dipakai, sebab beberapa bakteri hanya dapat tumbuh pada media agar tertentu, serta apabila tidak terjadi infeksi bakteri misalnya pada mastitis yang disebabkan adanya trauma maka tidak terkandung bakteri dalam sampel susu tersebut. Dodd *and* Booth (2001) juga mengemukakan apabila pengambilan sampel susu dilakukan secara rutin dan aseptis, maka sampel susu dari kuarter yang tidak terinfeksi bila ditanam pada media agar tidak akan menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri kecuali bila terjadi kontaminasi.

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan terhadap 200 sampel susu positif CMT dari beberapa peternakan sapi perah di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati Pasuruan dan ditanam pada media agar didapatkan bahwa 100 (50%) sampel mengandung bakteri stafilocokus, dimana 98 (49%) sampel berasal dari ambing dengan mastitis subklinis dan hanya 2 (1%) sampel yang berasal dari ambing dengan mastitis klinis (Tabel 4.1.). Oliver (2000) mengemukakan bahwa mastitis yang disebabkan stafilocokus dapat mencapai 70% dalam suatu peternakan. Kirkan *et al.* (2003) juga mengemukakan hasil penelitiannya yang menunjukkan bahwa 145 (48,33%) sampel dari 300 sampel susu mastitis merupakan positif stafilocokus.

Menurut Andrews (2000), mastitis klinis dan mastitis subklinis dibedakan berdasarkan derajat keparahannya, penyebabnya, serta karakteristik dari cairan *exudate* yang berasal dari kuartir yang terinfeksi, dimana mastitis klinis seringkali disertai gejala klinis pada sapi penderita, seperti demam, anoreksia, depresi, kebengkakan pada ambing yang terinfeksi dan perubahan fisik pada susu. Mastitis subklinis tidak disertai dengan gejala klinis baik pada ambing yang terinfeksi maupun pada susu yang diproduksi, dan hanya ditandai penurunan produksi dan kualitas susu serta peningkatan jumlah sel somatik (SCC) (Wattiaux, 1996; Schroeder, 1997), yang hanya dapat diketahui dengan pemeriksaan laboratorium (Andrews, 2000), oleh karena itu meski mastitis klinis yang terjadi dapat dideteksi secara dini oleh pemerah selama proses pemerahan, namun hal tersebut hanyalah puncak dari fenomena gunung es sebab infeksi secara subklinis lebih banyak terjadi dan dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang lebih besar (Dodd *and*

Booth, 2001). Kondisi demikian juga diamati oleh peneliti selama proses pengambilan sampel dimana perubahan fisik susu, berupa susu yang lebih encer dan sedikit pecah serta menunjukkan hasil CMT positif, yang berasal pada sapi dengan ambing tanpa disertai gejala klinis tetap disetorkan ke koperasi dan dianggap normal oleh para pemerah.

Hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa dari 100 sampel susu positif stafilocokus yang didapatkan, 74 (37%) sampel merupakan stafilocokus koagulase negatif (CNS) dan 26 (13%) sampel merupakan stafilocokus koagulase positif yang semuanya berasal dari ambing dengan mastitis subklinis dan 11,5% diantaranya dengan hasil +1 dan +2 CMT (Tabel 4.2.).

Kirkan *et al.* (2003) mengemukakan hasil penelitiannya yang menunjukkan bahwa didapatkan sebesar 85 (58,62%) sampel stafilocokus koagulase positif atau *S. aureus* dan 60 (41,38%) sampel merupakan stafilocokus koagulase negatif. Selama beberapa tahun terakhir juga disebutkan terjadinya peningkatan infeksi oleh stafilocokus koagulase negatif sebagai penyebab mastitis di seluruh dunia yang dapat menyebabkan penurunan produksi susu sebesar 8,7% dalam satu masa laktasi. Oliver (2000) juga mengemukakan bahwa dalam suatu peternakan dapat diisolasi stafilocokus koagulase negatif sebesar 67,4% yang seringkali dapat diisolasi bersamaan dengan bakteri penyebab *environmental mastitis*. Kondisi demikian berkaitan erat dengan kondisi kandang tempat pemerahan berlangsung, sebab menurut Quinn *et al.* (2002) infeksi stafilocokus koagulase negatif menyebar ke sapi melalui kontak langsung puting terhadap alas kandang, lumpur, kotoran dan pupuk yang ada di sekitar sapi.

Stafilokokus koagulase positif diduga sebagai *S. aureus*, sebab produksi enzim koagulase merupakan faktor patogenitas utama dari *S. aureus* yang membedakan *S. aureus* dari stafilokokus lainnya (Koneman *et al.*, 1992; Fox, 2000; Quinn *et al.*, 2002; Levinson and Jawetz, 2003; Bello and Qahtani, 2004).

Mastitis yang disebabkan oleh *S. aureus* seringkali terjadi secara subklinis (Jones *et al.*, 1998; Bannerman and Wall, 2005). Reaksi CMT +1 menunjukkan adanya peradangan pada ambing serta merupakan indikasi bahwa sapi tersebut menderita mastitis subklinis, sedangkan reaksi +2 menunjukkan adanya peradangan yang serius pada ambing dan cenderung dapat berubah menjadi mastitis klinis bila terjadi secara kronis (Subronto, 2003), sehingga sesuai dengan pernyataan Quinn *et al.* (2002) dimana dikemukakan bahwa *S. aureus* seringkali menyebabkan mastitis secara subklinis dan berlangsung kronis.

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan menunjukkan bahwa masih banyak kasus mastitis yang terjadi pada beberapa peternakan sapi perah di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati, padahal telah dilakukan pengobatan terhadap sapi perah penderita mastitis klinis, namun pengobatan di lapangan dilakukan apabila terdapat laporan tentang kasus mastitis klinis, dengan antibiotika yang sama dalam beberapa tahun terakhir ini. Menurut Farzana *et al.* (2004), penggunaan antibiotika yang tidak terarah baik untuk pengobatan maupun untuk pencegahan dapat meningkatkan daya tahan bakteri, sehingga kepekaan bakteri terhadap antibiotika yang diberikan akan berkurang.

Infeksi *S. aureus* biasanya terjadi selama proses pemerahan melalui mesin pemerah, tangan pemerah yang terkontaminasi dan bahan-bahan lain yang

digunakan untuk membersihkan ambing (Jones *et al.*, 1998; Roberson, 1999; Soltys and Quinn, 1999). *S. aureus* cenderung menyebabkan jaringan parut yang akan membentuk kantung-kantung infeksi dalam ambing sehingga sulit terjangkau oleh antibiotika (Wattiaux, 1996; Mellenberger and Kirk, 2001), selain itu baik *S. aureus* maupun stafilocokus koagulase negatif diketahui telah resisten terhadap beberapa jenis antibiotika (Boerlin *et al.*, 2003; Kirkan *et al.*, 2003; Farzana *et al.*, 2004), sehingga penentuan resistensi *S. aureus* terhadap beberapa jenis antibiotika menjadi salah satu langkah penting dalam upaya pemberantasan *S. aureus* penyebab mastitis (Purnomo dkk., 2006), terutama karena masih banyaknya kasus mastitis subklinis yang disebabkan oleh stafilocokus (49%) pada peternakan sapi perah di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati Pasuruan.

Hasil pengamatan terhadap 26 sampel stafilocokus koagulase positif yang diduga sebagai *S. aureus* yang diisolasi dari susu dengan ditanam pada media agar menunjukkan sebagian besar 19 (9,5%) sampel koloninya berwarna putih dan hanya 7 (3,5%) sampel yang koloninya berwarna kuning, sebagian (6%) sampel juga tidak menghemolisis eritrosit dalam BA atau bersifat gamma hemolisis (γ -hemolisis), 10 (5%) sampel dapat menghemolisis eritrosit dalam BA secara sempurna atau bersifat alfa hemolisis (α -hemolisis) dan hanya 4 (2%) sampel bersifat beta hemolisis (β -hemolisis) (Tabel 4.2.).

Warna koloni yang terbentuk pada *S. aureus* dapat bervariasi antara lain putih, kuning dan oranye (Purnomo dkk., 2006), dimana hanya strain *S. aureus* yang berasal dari sapi dan manusia yang memiliki koloni berwarna kuning (kuning keemasan), beberapa koloni stafilocokus koagulase negatif juga dapat

terpigmentasi (Quinn *et al.*, 2002). Strain *S. aureus* yang berasal dari hewan biasanya menghasilkan α -hemolisin dan β -hemolisin (Quinn *et al.*, 2002). α -hemolisin biasanya juga dihasilkan oleh strain *S. aureus* yang berasal dari manusia (Subronto, 2003).

Kondisi di lapangan yang diamati juga menunjukkan sanitasi kandang pada beberapa peternakan sapi perah di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati masih kurang baik, saluran pembuangan dan tempat penampungan feses dekat dengan tempat penampungan air maupun tempat penyimpanan pakan. Kondisi demikian menggambarkan banyaknya sumber-sumber infeksi strains *S. aureus* yang bukan berasal dari sapi maupun manusia, sesuai dengan pernyataan Roberson *et al.* (1994) yang mengemukakan bahwa *S. aureus* dapat diisolasi dari peralatan kandang, lingkungan kandang, air dan tanah, bahkan dari lalat, sehingga seringkali dapat ditemukan strain *S. aureus* yang bukan berasal dari sapi maupun dari manusia terkandung dalam susu.

Hemolisin yang dihasilkan *S. aureus* bersifat toksik karena dapat melisis sel darah merah hospes (Purnomo dkk., 2006). α -hemolisin bersifat dermonekrotik dan dapat menyebabkan vasokonstriksi pembuluh darah sehingga dapat menyebabkan kematian (Timoney *et al.*, 1988; Koneman *et al.*, 1992; Quinn *et al.*, 2002), sedangkan δ -hemolisin dapat menyebabkan dermonekrotik dan merusak leukosit (Timoney *et al.*, 1988; Jawetz *et al.*, 2001), sehingga pada umumnya *S. aureus* yang dapat memproduksi hemolisin termasuk bersifat patogen (Purnomo dkk., 2006).

Kriteria identifikasi untuk *S. aureus* selain morfologi koloni secara makroskopis dan mikroskopis serta kemampuan melisiskan darah pada media *Blood Agar*, antara lain meliputi kemampuan produksi enzim katalase yang membedakannya dengan streptokokus, tidak tumbuh pada *MacConkey Agar*, kemampuan produksi enzim koagulase dan kemampuan fermentasi mannitol pada MSA (Pramono, 1987; Koneman *et al.*, 1992; Quinn *et al.*, 2002).

Uji fermentasi mannitol dengan penanaman pada MSA merupakan prosedur utama yang biasa digunakan setelah hasil uji koagulasi dalam identifikasi *S. aureus*, apabila suatu bakteri stafilokokus dapat menghasilkan enzim koagulase atau bersifat koagulase positif dan dapat memfermentasi mannitol pada MSA maka bakteri stafilokokus tersebut adalah *S. aureus* (Johnson and Case, 1995; Sari, 2003), namun berdasarkan pengamatan yang dilakukan menunjukkan bahwa hanya 24 sampel dari 26 sampel stafilokokus koagulase positif yang dapat memfermentasi mannitol pada MSA dan banyak stafilokokus koagulase negatif yang juga dapat memfermentasi mannitol (Tabel 4.2.). Penggunaan isolat murni *S. aureus* yang berasal dari laboratorium, yang digunakan sebagai kontrol positif dalam setiap cawan Petri selama proses identifikasi juga tidak selalu menunjukkan adanya fermentasi mannitol pada MSA. Kondisi demikian dapat disebabkan oleh kondisi media agar yang buruk maupun dari bakteri itu sendiri, sebab stafilokokus koagulase positif lainnya seperti *S. intermedius* juga dapat memfermentasi mannitol pada MSA meski dengan reaksi yang lambat (*delayed reaction*) (Timoney *et al.*, 1988).

MSA merupakan media selektif untuk isolasi stafilocokus. Kandungan kadar garam (NaCl) yang tinggi (7,5%) dalam MSA akan menghambat pertumbuhan bakteri lain selain stafilocokus, sebab stafilocokus mampu bertahan dan tumbuh pada media dengan kadar garam yang tinggi (Beishir, 1991; Cappucino and Sherman, 2005). *S. aureus* dapat memfermentasi mannitol membentuk asam yang akan terlarut dalam media dan mengubah *phenol red* dalam media dari merah menjadi kuning (Beishir, 1991; Koneman *et al.*, 1992; Cappucino and Sherman, 2005).

Deteksi produksi asetoin melalui uji VP sebenarnya merupakan prosedur dalam identifikasi bakteri *Enterobacter sp.*, yang merupakan kombinasi dari *Methyl-Red Test* (Uji MR-VP) (Beishir, 1991; Cappucino and Sherman, 2005), namun deteksi produksi asetoin dapat menjadi alternatif identifikasi *S. aureus* (Koneman *et al.*, 1992), yang juga dapat menjadi ciri khas yang membedakan *S. aureus* dari stafilocokus koagulase positif lainnya (Quinn *et al.*, 2002).

Uji VP digunakan untuk membedakan antara organisme yang menghasilkan asam dalam jumlah yang besar dan yang menghasilkan *nonacidic* atau produk netral seperti *acetyl methyl carbinol* (asetoin) dari hasil metabolisme glukosa. Produk netral ini membuat bakteri dapat memfermentasi karbohidrat dalam jumlah yang besar (Wen *et al.*, 1994; Min *et al.*, 1999). Adanya kandungan asetoin yang diproduksi dalam larutan ditandai dengan perubahan warna larutan dari kuning menjadi merah muda hingga merah tua (Johnson and Case, 1995; Cappucino and Sherman, 2005). *S. aureus* dapat memproduksi asetoin sebagai

hasil fermentasi glukosa yang membedakannya dengan stafilocokus lainnya (Koneman *et al.*, 1992; Quinn *et al.*, 2002).

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa dari 26 sampel stafilocokus koagulase positif yang diduga sebagai *S. aureus*, 25 sampel diantaranya dapat memproduksi asetoin, meski masih terdapat stafilocokus koagulase negatif yang juga dapat memproduksi asetoin (Tabel 4.2.), namun isolat murni *S. aureus* yang digunakan sebagai kontrol positif semuanya menunjukkan adanya produksi asetoin, hal ini sesuai dengan pernyataan Koneman *et al.* (1992), Holt *et al.* (2000) dan Quinn *et al.* (2002) dimana dari semua spesies stafilocokus koagulase positif yang dapat menyebabkan mastitis pada sapi perah hanya *S. aureus* yang dapat memproduksi asetoin melalui uji VP.

Berdasarkan hasil pengamatan maka diketahui bahwa deteksi produksi asetoin melalui uji VP sama-sama dapat digunakan sebagai prosedur identifikasi yang spesifik untuk *S. aureus* seperti uji fermentasi mannitol pada MSA, oleh karena itu perlu diketahui apakah terdapat perbedaan diantara kedua uji tersebut dengan cara membandingkan antara hasil uji fermentasi mannitol pada MSA dan deteksi produksi asetoin melalui uji VP yang didapatkan terhadap sampel positif stafilocokus dengan hasil uji koagulasi positif yang merupakan sifat utama *S. aureus*, seperti yang terlihat pada Tabel 4.3.

Hasil perbandingan kedua uji tersebut kemudian dianalisis dengan uji *Chi-square*. Hasil uji *Chi-square* terhadap kedua uji identifikasi *S. aureus* menunjukkan bahwa deteksi produksi asetoin melalui uji VP dan uji fermentasi mannitol pada MSA tidak berbeda secara signifikan dalam kaitannya dengan

perbandingan hasil positif dan negatif yang diperoleh melalui kedua uji tersebut, dengan catatan bahwa hasil uji koagulasi harus positif yang membedakan *S. aureus* dengan stafilocokus lainnya (Koneman *et al.*, 1992), selain itu penggunaan VP hanya memakai biaya sebesar Rp. 1000,- tiap sampel sedangkan bila dengan MSA akan memakai biaya sebesar Rp. 7000,- untuk tiap sampelnya, sehingga deteksi produksi asetoin dengan uji VP dapat menggantikan uji fermentasi pada MSA untuk mengidentifikasi *S. aureus* ditinjau dari segi ekonomisnya. Hasil yang diperoleh dari uji *Chi-square* tersebut sesuai dengan pendapat Kloos *and* Lambe, Jr. (1991); Koneman *et al.* (1992); Holt *et al.* (2000) dan Quinn *et al.* (2002) yang menyatakan bahwa deteksi produksi asetoin dari glukosa melalui uji VP merupakan alternatif ciri khas yang sangat berguna untuk membedakan *S. aureus* dari spesies stafilocokus lainnya, terutama untuk membedakan *S. aureus* dari stafilocokus koagulase positif lainnya yang juga dapat memfermentasi mannitol pada MSA namun tidak dapat memproduksi asetoin pada uji VP.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dan penelitian tentang identifikasi *S. aureus* penyebab mastitis pada sapi perah di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati Pasuruan, dapat disimpulkan hal-hal sebagai berikut:

- Dari 200 sampel susu positif CMT yang berasal dari beberapa peternakan di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati Pasuruan, 100 (50%) sampel mengandung stafilocokus, 74 (37%) sampel merupakan stafilocokus koagulase negatif dan 26 (13%) sampel merupakan stafilocokus koagulase positif yang diduga sebagai *S. aureus*.
- Hasil perbandingan antara deteksi produksi asetoin terhadap uji fermentasi mannitol dari 26 sampel stafilocokus koagulase positif menunjukkan tidak ada perbedaan antara ketiga uji tersebut sebagai metode identifikasi *S. aureus*.
- Uji VP dapat menggantikan MSA sebagai metode untuk identifikasi *S. aureus* yang mudah, ekonomis dan dapat dipercaya.

6.2. Saran

Berdasarkan hasil pengamatan dan penelitian yang telah didapatkan, maka dapat diajukan beberapa saran sebagai berikut:

- Perlu dilakukan survei secara berkala untuk mengetahui perkembangan mastitis di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati Pasuruan.
- Perlu dilakukan isolasi dan identifikasi serta uji resistensi antibiotika terhadap bakteri penyebab mastitis pada sapi perah di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati Pasuruan, yang dilakukan secara berkala untuk mengurangi angka kejadian kasus mastitis.
- Peningkatan pelayanan dan pendidikan manajemen peternakan bagi peternak, khususnya yang berkaitan dengan upaya pencegahan penyebaran infeksi *S. aureus* penyebab mastitis.
- Perlunya dilakukan penelitian lanjutan tentang identifikasi *S. aureus* dengan deteksi adanya asetoin melalui uji VP terhadap strain *S. aureus* yang berasal dari sampel selain susu.

RINGKASAN

Staphylococcus aureus merupakan bakteri utama penyebab mastitis pada sapi perah (Twomey *et al.*, 2000; Malinowski *et al.*, 2002; Quinn *et al.*, 2002), yang seringkali terjadi secara subklinis dan menahun (Jones *et al.*, 1998; Dodd and Booth, 2001; Purnomo dkk., 2006), sehingga menyebabkan kerugian ekonomi yang sangat besar bagi peternakan sapi perah di seluruh dunia (Ruegg, 2001; Bannerman and Wall, 2005), oleh karena itu identifikasi *S. aureus* dengan menggunakan metode yang mudah, ekonomis, cepat dan dapat dipercaya menjadi sangat penting untuk membatasi penyebaran penyakit mastitis (Boerlin *et al.*, 2003).

Produksi asetoin (*acetyl methyl carbinol*) dari glukosa yang dapat diketahui dengan uji VP (Johnson and Case, 1995; Cappucino and Sherman, 2005), merupakan alternatif yang sangat berguna untuk membedakan *S. aureus* dari bakteri stafilokokus lainnya yang terkandung dalam susu sapi penderita mastitis (Kloos and Lambe, Jr., 1991; Koneman *et al.*, 1992; Quinn *et al.*, 2002).

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan identifikasi *S. aureus* penyebab mastitis pada beberapa peternakan sapi perah di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Kecamatan Grati Kabupaten Pasuruan dengan cara deteksi adanya produksi asetoin melalui uji VP dibandingkan dengan uji fermentasi mannitol pada MSA.

Sampel diambil dari 19 peternakan pada empat desa di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati Pasuruan, dengan pertimbangan lokasi desa

merupakan daerah yang padat ternak, mudah dijangkau, berada di utara, barat, timur dan selatan dari KUTT Suka Makmur, serta peternakan tersebut memiliki lebih dari 10 ekor sapi perah. Sampel diambil sebanyak 50 sampel dari tiap desa sehingga didapatkan jumlah sampel keseluruhan sebanyak 200 sampel. Pengambilan sampel susu diawali dengan melakukan wawancara sejarah penyakit serta pengamatan gejala klinis yang tampak, kemudian dilakukan pemeriksaan CMT dan sampel susu yang positif CMT akan diambil kemudian dilakukan pemeriksaan bakteriologis. Pemeriksaan bakteriologis meliputi isolasi dengan penanaman pada BA dan MCA, pemeriksaan makroskopis, mikroskopis serta pewarnaan Gram dan uji katalase untuk menentukan jenis bakteri (Pramono, 1987; Quinn *et al.*, 2002).

Bakteri stafilocokus terkandung dalam 100 (50%) sampel susu positif CMT yang berasal dari beberapa peternakan di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati Pasuruan. Hasil identifikasi menunjukkan 74 (37%) sampel merupakan stafilocokus koagulase negatif dan 26 (13%) sampel merupakan stafilocokus koagulase positif. Hasil perbandingan antara uji fermentasi mannitol dan deteksi produksi asetoin dari 26 sampel stafilocokus koagulase positif yang diduga sebagai *S. aureus*, positif *S. aureus* melalui deteksi produksi asetoin didapatkan sebanyak 25 sampel, sedangkan positif *S. aureus* melalui hasil uji fermentasi mannitol sebanyak 24 sampel, kemudian hasil perbandingan kedua uji tersebut dianalisis menggunakan uji *Chi-square* dan diperoleh bahwa tidak ada perbedaan (χ^2 hitung=0,3537, χ^2 tabel ($\alpha=0,01$; dk=1)=6,6349) antara kedua uji tersebut, sehingga ditinjau dari segi ekonomisnya deteksi produksi asetoin melalui

uji VP dapat menggantikan uji fermentasi mannitol pada MSA untuk mengidentifikasi *S. aureus*, dengan catatan bahwa hasil uji koagulasi harus positif yang membedakan *S. aureus* dengan stafilocokus lainnya (Kloos and Lambe, Jr., 1991; Koneman *et al.*, 1992; Quinn *et al.*, 2002).

Perlu dilakukan survei, isolasi-identifikasi serta uji resistensi antibiotika secara berkala terhadap bakteri penyebab mastitis pada sapi perah di wilayah kerja KUTT Suka Makmur Grati Pasuruan untuk mengurangi angka kejadian kasus mastitis, khususnya yang berkaitan dengan upaya pencegahan penyebaran infeksi *S. aureus* penyebab mastitis dengan cara peningkatan pelayanan dan pendidikan manajemen peternakan bagi peternak, dan perlunya dilakukan penelitian lanjutan tentang identifikasi *S. aureus* dengan deteksi adanya asetoin melalui uji VP terhadap strain *S. aureus* yang berasal dari sampel selain susu.

DAFTAR PUSTAKA

- Aksan dan C. Pahlevi. 2006. Hasil Validasi Data dan Survei Parameter Statistik Peternakan. Dinas Peternakan dan Kehewanan Kabupaten Pasuruan. Pasuruan.
- Andrews, A. H. 2000. The Health of Dairy Cattle. Blackwell Publishing. USA. 38- 41, 478 - 480.
- Arbuthnott, J. P. 1992. Staphylococcus: Skin and Wound Infections; Abscess; Osteomyelitis; Food Poisoning. In: D. Greenwood, R. C. B. Slack and J. F. Peutherer. Medical Microbiology: A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Diagnosis and Control (Eds.). 14th ed. Churchill Livingstone. Edinburgh. London. 203 - 206, 209 - 210.
- Atlas, R. M. 1997. Handbook of Microbiological Media. 2nd ed. Parks, L.C. (Ed.). CRC Press. USA. 182, 794, 808, 969.
- Bannerman, D. D. and R. J. Wall. 2005. A Novel Strategy for the Prevention of Staphylococcus aureus-Induced Mastitis in Dairy Cows. Information Systems for Biotechnology News Report. Virginia Tech University. USA. 1 - 4.
- Beishir, L. 1991. Microbiology in Practice: A Self-Instructional Laboratory Course. 5th ed. HarperCollins Publishers Inc. New York. USA. 223 - 229, 356 - 361, 446 - 450.
- Bello, C. S. S and A. Qahtani. 2005. Pitfalls in the Routine Diagnosis of Staphylococcus aureus. African Journal of Biotechnology. 4 (1): 83 - 86.
- Bijanti, R., S. Partosoewignjo, R. S. Wahjuni dan B. Utomo, 2002. Penuntun Praktika Laboratorium Patologi Klinik Veteriner. Cetakan Ketiga. Laboratorium Patologi Klinik Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 1 - 3.
- Boerlin, P., P. Kuhnert, D. Hussy and M. Schaellibaum. 2003. Methods for Identification of Staphylococcus aureus Isolates in Cases of Bovine Mastitis. Journal of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology. 41 (2): 767 - 769.
- Budiarto, E. 1984. Dasar-Dasar Metoda Statistika Kedokteran. Penerbit Alumni. Bandung. 255 - 270.

- Cappucino, J. G. and N. Sherman. 2005. *Microbiology: A Laboratory Manual*. 7th ed. Pearson Education Inc. USA. 101 - 102, 117, 164, 166, 189, 204, 409-410, 415 - 416, 509, 511 - 512.
- Cassel, E. K. 1993. *Mastitis Control: Reducing Somatic Cell Counts*. Extension Extra Dairy Science. South Dakota State University. USA. 4004: 1 - 4.
- Cmngm. 2007. *The Bacteriology of the Staphylococci*. Stanford Education. USA. [//http://cmngm.stanford.edu/micro/MI209/Staphylococcus%20aureus.pdf](http://cmngm.stanford.edu/micro/MI209/Staphylococcus%20aureus.pdf) [12 Maret 2007]
- Dinas Peternakan. 2006. *Peternakan Dalam Data*. Dinas Peternakan Propinsi Jawa Timur. Surabaya. 24 - 26, 55.
- Djarwanto. 2003. *Statistik Nonparametrik*. BPFE-Yogyakarta. Yogyakarta. 5 - 12, 69 - 73.
- Dodd, F. H. and J. M. Booth. 2001. *Mastitis and Milk Production*. In: E. H. Marth and J. L. Steele. *Applied Dairy Microbiology*. 2nd ed. Marcell Dekker Inc. USA. 213 - 255.
- Farzana, K., S. N. H. Shah and F. Jabeen. 2004. Antibiotic Resistance Pattern Againsts Various Isolates of *Staphylococcus aureus* from Raw Milk Samples. *Journal of Research (Science)*. Bahauddin Zakariya University. Maltan. Pakistan. 15 (2): 145 - 151.
- Fox, M. T. 2000. *Identification of Gram-Positive Bacteria: Normal Flora Staphylococci*. [//http://web.indstate.edu/thcme/micro/gpos_lab.html](http://web.indstate.edu/thcme/micro/gpos_lab.html) [3 Maret 2007]
- Gabungan Koperasi Susu Indonesia. 1995. *Petunjuk Praktis Beternak Sapi Perah*. Cooperative Center Denmark dan Gabungan Koperasi Susu Indonesia Korda Jawa Timur. Pasuruan. 53 - 54
- Garcia, A. 2004. *Contagious vs. Environmental Mastitis*. Extension Extra Dairy Science. South Dakota State University. USA. 4028: 1 - 4.
- Holt, J. G., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staley, S. T. Williams. 2000. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia. USA. 532, 536, 544 - 551.
- Jawetz, E., J. L. Melnick and E. A. Adelberg. 2001. *Medical Microbiology*. 22nd edition. McGraw Hill Companies Inc. USA. 223 - 233, 317 - 326.

- Johnson, M. T. 2001. Hemolysis on Blood Agar. Medical Microbiology. Indiana University School of Medicine.
//<http://web.indstate.edu/thcme/micro/hemolys.html> [12 Maret 2007]
- Johnson, T. R. and C. L. Case. 1995. Laboratory Experiments in Microbiology. 4th ed. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California. USA. 39 - 41, 101 - 103, 313 - 314.
- Jones, G. M. and T. L. Bailey, Jr. 1998. Mastitis Control in Heifers and First Lactation. Dairy Science Publication. Virginia Polytechnic Institute and State University. USA. 404 - 281.
- Jones, G. M., T. L. Bailey, Jr. and J. R. Roberson. 1998. Staphylococcus aureus Mastitis: Cause, Detection and Control. Dairy Science Publication. Virginia Polytechnic Institute and State University. USA.
- Kirkan, S., E. O. Goksoy and O. Kaya. 2003. Identification and Antimicrobial Susceptibility of Staphylococcus aureus and Coagulase Negative Staphylococci from Bovine Mastitis in the Aydin Region of Turkey. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 29 (2005): 791 - 796.
- Kloos, W. E. and D. W. Lambe, Jr. 1991. Staphylococcus. In: A. Balows, W. J. Hausler, Jr., K. L. Herrmann, H. D. Isenberg, H. J. Shadomy (Eds.). Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. American Society for Microbiology. Washington, DC. USA. 222 - 232.
- Koneman, E. W., S. D. Allen, W. M. Janda, P. C. Shreckenberger and W. C. Winn, Jr. 1992. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 4th ed. J. B. Lippincott Company. Philadelphia, Pennsylvania. USA. 108 - 109, 121, 176, 194, 405, 407 - 411, 414 - 416, 419 - 424.
- Levinson, W., E. Jawetz. 2003. Medical Microbiology & Immunology: Examination & Board Review. 7th ed. McGraw-Hill Companies Inc. Singapore. 91 - 95, 437.
- Malinowski, E., A. Klossowska, M. Kaczmarowski, H. Lassa and K. Kuzma. 2002. Antimicrobial Susceptibility of Staphylococci Isolated from Affected with Mastitis Cows. Bull. Vet. Inst. Pulawy. 46: 289 - 294.
- Marshall, R. T., J. E. Edmondson and B. Steevens. 1993. Using the California Mastitis Test. University of Missouri Extension. USA.
//<http://muextension.missouri.edu/explore/agguides/dairy/g03653.htm> [3 Maret 2007]
- Martin, S. W., A. H. Meek, P. Willeberg. 1987. Veterinary Epidemiology Principle and Methods. Iowa State University Press/ Ames. 22 - 40.

- Mellenberger, R. and J. Kirk. 2001. Mastitis Control Program for Staph. aureus Infected Dairy Cows. Michigan State University Press. USA.
- Merchant, I. A. and R. A. Parker. 1971. Veterinary Bacteriology and Virology. 7th ed. The Iowa State University Press. Ames. Iowa. USA. 242 - 244.
- MicrobeWiki. 2006. Staphylococcus. The Student-Edited Microbiology Resource. [//http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Staphylococcus](http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Staphylococcus) [20 April 2007]
- Min, H., F. B. O. Sanio and A. Steinbuchel. 1999. Biochemical and Molecular Characterization of the Bacillus subtilis Acetoin Catabolic Pathway. Journal of Bacteriology. American Society for Microbiology. USA. 181 (12): 3837.
- Oliver, S. P. 2000. Mastitis in Heifers: Prevalence, Strategy for Control during the Periparturient Period, and Economic Implications. Proceeding British Mastitis Conference. Institute for Animal Health/Milk Development Council. 1 - 13.
- Pramono, S. U. 1987. Diagnostika Penyakit Bakterial pada Hewan. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. 22.
- Purnomo, A., Hartatik, Khusnan, S. I. O. Salasia dan Soegiyono. 2006. Isolasi dan Karakterisasi Staphylococcus aureus Asal Susu Kambing Peternakan Ettawa. Media Kedokteran Hewan. 22 (3): 142 - 147.
- Quinn, P. J., B. K. Markey, M. E. Carter, W. J. Donnelly and F. C. Leonard. 2002. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Blackwell Publishing. USA. 43 - 46, 465 - 475.
- Ruegg, P. L. 2001. Mastitis Control. Dairy Updates Milking and Milk Quality. The Babcock Institute. University of Wisconsin. USA. 405: 1 - 10.
- Roberson, J. R., L. K. Fox, D. D. Hancock, J. M. Gay and T. E. Besser. 1994. Ecology of Staphylococcus aureus Isolated from Various Sites on Dairy Farms. J. Dairy Sci. 77 (11): 3354 - 3364.
- Roberson, J. R. 1999. The Epidemiology of Staphylococcus aureus in Dairy Farms. National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings. 38 - 47.
- Rosilawati, E. S. I., D. Handijatno, W. Tyasningsih. 2003. Penuntun Praktikum Mikrobiologi Veteriner I. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 17 - 22, 26 - 27.

- Rosilawati, E. S. I. 2006. Bahan Kuliah Mastitis. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sanders, M. E. 1992. Dairy Products. In: J. Lederberg (Ed.). Encyclopedia of Microbiology. Academic Press Inc. San Diego. USA. 2: 1 - 4.
- Santoso, S. 1999. SPSS (Statistical Product and Service Solutions) Versi 7.5. Edisi Pertama. PT. Elex Media Komputindo. Jakarta. 365 - 370.
- Sari, R. W. 2003. Pengaruh Pemberian Gerusan Daun Sirih Hitam, Gerusan Daun Sirih Jawa dan Oksitetrasiklin Secara Topikal Terhadap Lama dan Waktu Kesembuhan Luka Infeksi Staphylococcus aureus pada Tikus Putih. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Schroeder, J. W. 1997. Mastitis Control Programs: Bovine Mastitis and Milking Management. North Dakota State University Agriculture and University Extension. USA. //http://www.ag.ndsu.edu/pubs/ansci/dairy/as1129w.htm [3 Maret 2007]
- Soltys, J. and M. T. Quinn. 1999. Selective Recruitment of T-Cell Subsets to the Udder during Staphylococcal and Streptococcal mastitis: Analysis of Lymphocyte Subsets and Adhesion Molecule Expression. Infection and Immunity. American Society for Microbiology. 67 (12): 6293.
- Staf Pengajar Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi. 2002. Petunjuk Praktikum Ilmu Penyakit Bakterial. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 5 - 6, 11 - 12, 18
- Subronto. 2003. Ilmu Penyakit Ternak (Mamalia) I. Edisi Kedua. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 309 - 351.
- Teguh, W. 2004. Cara Mudah Melakukan Analisa Statistik dengan SPSS (Studi Kasus, Pembahasan dan Teknik Membaca Output). Gava Media. Yogyakarta. 129 - 130.
- Thompson, M. 2004. The IMViC Test. Biology Courses Page. //http://sciences.aum.edu/bi/BI2010/thomson/imvicproc.html [5 Mei 2007]
- Timoney, J. F., J. H. Gillespie, F. W. Scott and J. E. Barlough. 1988. Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Disease of Domestic Animals. 8th ed. Comstock Publishing Associates. 171 - 178.
- Todar, K. 2005. Staphylococcus. Department of Bacteriology. University of Wisconsin-Madison. USA. //http://www.textbookofbacteriology.net/staph.html [26 Februari 2007]

- Tortora, G. J., B. R. Funke and C. L. Case. 2001. *Microbiology: An Introduction*. 7th ed. Addison Wesley Longman Inc. USA. 323 - 324, 443 - 444.
- Twomey, D. P., A. I. Wheelock, J. Flynn, W. J. Meaney, C. Hill and R. P. Ross. 2000. Protection Against *Staphylococcus aureus* Mastitis in Dairy Cows Using a Bismuth-Based Teat Seal Containing the Bacteriocin, Lacticin 3147. *J. Dairy Sci.* 83: 1981 - 1982.
- Wattiaux, M. A. 1996. Mastitis: The Disease and Its Transmission. *Dairy Essentials*. Babcock Institute for International Dairy Research and Development. University of Wisconsin-Madison. USA. 89 - 92.
- Wellstood, S. 1992. Gram-Positive Cocci. *In*: J. Lederberg (Ed.). *Encyclopedia of Microbiology*. Academic Press Inc. San Diego. USA. 2: 319 - 322.
- Wen, L. D., Hwan Y. C. and Hwei L. P. 1994. Acetoin Catabolic System of *Klebsiella pneumoniae* CG43: Sequence, Expression and Organization of the *aco* Operon. *Journal of Bacteriology*. American Society for Microbiology. USA. 176 (12): 3527.
- Willet, H. P. 1992. *Zinsser Microbiology: Staphylococcus*. 20th ed. Appleton and Lange Publishing. USA. 401 - 402.



Lampiran 1. Hasil Pengamatan di Lapangan

Tanggal	No	Nama	Desa	No Unit	Kuartir	Mastitis	CMT	No Sampel
11/12/2006	1	Pak Basim	Sumber agung	644	KaD	Sub Klinis	+1	1
				1,225	KiB	Sub Klinis	+2	2
				976	KiD	Sub Klinis	+1	3
11/12/2006	2	Pak Soleh	Sumber agung	0	KaB	Sub Klinis	+1	4
				8,701	KiB	Sub Klinis	+1	5
11/12/2006	3	PSPT Sumber Agung	Sumber agung	92	KaD	Sub Klinis	+1	6
				9,668	KiB	Klinis	+2	7
				507	KiD	Klinis	+1	8
				2,108	KaD	Sub Klinis	+1	9
				321	KaB	Klinis	+1	10
				99,610	KiB	Klinis	+1	11
				347	KiD	Sub Klinis	+2	12
20/12/2006	4	Pak Maryo	Sumber agung	700	KaD	Sub Klinis	Trace	13
				4,073	KiB	Sub Klinis	+1	14
				626	KaD	Sub Klinis	Trace	15
				622	KaB	Sub Klinis	+1	16
				47	KiD	Sub Klinis	+2	17
				58	KiB	Sub Klinis	+2	18
				684	KaB	Sub Klinis	+2	19
				0	KiB	Sub Klinis	+1	20
				315	KaD	Sub Klinis	+1	21
				458	KiD	Sub Klinis	+2	22
				3,083	KaD	Sub Klinis	+3	23
				603	KaD	Sub Klinis	+2	24
20/12/2006	5	Ibu Zainal	Sumber agung	216	KaB	Sub Klinis	+1	25

lanjutan...

Tanggal	No	Nama	Desa	No Unit	Kuartir	Mastitis	CMT	No Sampel
				457	KiB	Sub Klinis	+1	26
				621	KaD	Sub Klinis	+2	27
				602	KiD	Sub Klinis	+3	28
				46	KaB	Sub Klinis	+1	29
				40	KiD	Sub Klinis	+2	30
				557	KaD	Sub Klinis	+1	31
				6,025	KiB	Sub Klinis	Trace	32
				508	KiD	Sub Klinis	+1	33
				450	KaB	Sub Klinis	+1	34
				3,084	KiD	Klinis	+2	35
				3,080	KiD	Klinis	+2	36
				3,081	KaB	Sub Klinis	+2	37
				0	KiB	Sub Klinis	+1	38
				460	KaD	Sub Klinis	+2	39
02/01/2007	6	Pak Tangkas	Sumber agung	3,067	KaD	Sub Klinis	+2	40
				810	KiD	Klinis	+2	41
				8,702	KaB	Sub Klinis	Trace	42
				8,706	KaD	Sub Klinis	+1	43
				0	KiD	Sub Klinis	Trace	44
				0	KaD	Sub Klinis	+1	45
				0	KiB	Sub Klinis	+1	46
				10	KaD	Sub Klinis	+1	47
				10	KiD	Sub Klinis	+1	48
				10	KiB	Sub Klinis	+2	49
				11	KaB	Sub Klinis	+1	50

lanjutan...

Tanggal	No	Nama	Desa	No Unit	Kuartir	Mastitis	CMT	No Sampel
02/01/2007	7	Pak Teguh	Ranuklindungan	11	KiD	Sub Klinis	+2	51
				11	KiB	Sub Klinis	+1	52
				12	KaD	Sub Klinis	+2	53
				12	KaB	Sub Klinis	+1	54
				12	KiD	Sub Klinis	+2	55
				12	KiB	Sub Klinis	+1	56
				15	KaD	Sub Klinis	+1	57
				15	KiB	Sub Klinis	+1	58
				16	KaD	Sub Klinis	+1	59
				16	KaB	Sub Klinis	+1	60
				16	KiD	Sub Klinis	+1	61
				16	KiB	Sub Klinis	+1	62
				18	KaD	Sub Klinis	+1	63
				18	KaB	Sub Klinis	+2	64
				18	KiD	Sub Klinis	+1	65
				18	KiB	Sub Klinis	+2	66
				19	KaD	Sub Klinis	+2	67
				19	KaB	Sub Klinis	+1	68
				19	KiD	Sub Klinis	+1	69
				19	KiB	Sub Klinis	+1	70
				20	KaD	Sub Klinis	+2	71
				20	KaB	Sub Klinis	+2	72
				20	KiB	Sub Klinis	+1	73

lanjutan...

Tanggal	No	Nama	Desa	No Unit	Kuartir	Mastitis	CMT	No Sampel
16/01/2007	8	Pak Budi	Ranuklindungan	21	KiD	Sub Klinis	+2	74
				21	KiB	Sub Klinis	+2	75
				21	KaB	Sub Klinis	+2	76
				23	KiB	Klinis	+2	77
				24	KaD	Sub Klinis	+1	78
				24	KaB	Sub Klinis	+1	79
				24	KiB	Sub Klinis	+1	80
				25	KaD	Sub Klinis	+1	81
				25	KaB	Sub Klinis	+1	82
				25	KiD	Sub Klinis	+2	83
				25	KiB	Sub Klinis	+2	84
				26	KaD	Sub Klinis	+2	85
				26	KaB	Sub Klinis	+2	86
				26	KiD	Sub Klinis	+2	87
				26	KiB	Sub Klinis	+2	88
				0	KiD	Sub Klinis	+1	89
30/01/2007	9	PSPT Trewung	Trewung	0	KaD	Sub Klinis	+2	90
				0	KaB	Sub Klinis	+2	91
				11	KaD	Sub Klinis	+1	92
				11	KaB	Sub Klinis	+1	93
				11	KiB	Sub Klinis	+1	94
				11	KiD	Sub Klinis	+1	95
				1,541	KaB	Sub Klinis	+1	96
				1,541	KiB	Sub Klinis	+1	97
				1,541	KaD	Sub Klinis	+1	98

lanjutan...

Tanggal	No	Nama	Desa	No Unit	Kuartir	Mastitis	CMT	No Sampel
				1,541	KiD	Sub Klinis	+2	99
				1,296	KiD	Sub Klinis	+2	100
				1,296	KaD	Sub Klinis	+1	101
				0	KiD	Sub Klinis	+1	102
				0	KiB	Sub Klinis	+2	103
				0	KiB	Sub Klinis	+2	104
				10	KiD	Sub Klinis	+2	105
				9	KiD	Sub Klinis	+2	106
				9	KaD	Sub Klinis	+2	107
				8	KaD	Klinis	+3	108
				8	KaB	Sub Klinis	+2	109
				8	KiD	Sub Klinis	+2	110
				715	KaD	Sub Klinis	+1	111
				715	KiD	Sub Klinis	+1	112
				715	KaB	Sub Klinis	+1	113
				768	KiD	Sub Klinis	+1	114
				768	KiB	Sub Klinis	+1	115
				0	KiD	Sub Klinis	+2	116
30/01/2007	10	Pak Suroto	Trewung	5	KiD	Sub Klinis	+2	117
				0	KaD	Sub Klinis	+1	118
				0	KiB	Sub Klinis	+2	119
				0	KiB	Sub Klinis	+1	120
				2	KiD	Sub Klinis	+1	121
				0	KiD	Sub Klinis	+2	122
				0	KaD	Sub Klinis	+2	123

lanjutan...

Tanggal	No	Nama	Desa	No Unit	Kuartir	Mastitis	CMT	No Sampel
				0	KaB	Sub Klinis	+1	124
				0	KiB	Sub Klinis	+2	125
30/01/2007	11	Pak Supri	Trewung	179	KaD	Sub Klinis	+2	126
				0	KiB	Sub Klinis	+1	127
				0	KiD	Sub Klinis	+2	128
				0	KaB	Sub Klinis	+2	129
				766	KaD	Sub Klinis	+1	130
				1,448	KaD	Sub Klinis	+1	131
				776	KaB	Sub Klinis	+3	132
				0	KaB	Sub Klinis	+1	133
30/01/2007	12	Pak Satimin	Trewung	4	KaD	Sub Klinis	+1	134
				1,916	KiD	Sub Klinis	+1	135
				3	KaB	Sub Klinis	+1	136
				0	KaD	Sub Klinis	+1	137
				0	KiB	Sub Klinis	+2	138
				0	KaB	Sub Klinis	+1	139
30/01/2007	13	Pak Mariyono	Ranuklindungan	0	KiD	Sub Klinis	+1	140
				0	KaD	Sub Klinis	+2	141
				2	KiB	Sub Klinis	+1	142
				0	KaB	Sub Klinis	+2	143
				0	KaD	Sub Klinis	+1	144
				0	KaB	Sub Klinis	+2	145
30/01/2007	14	Pak Jayadi	Ranuklindungan	0	KaB	Sub Klinis	+1	146
				0	KiD	Sub Klinis	+1	147

lanjutan...

Tanggal	No	Nama	Desa	No Unit	Kuartir	Mastitis	CMT	No Sampel
				0	KiD	Sub Klinis	+1	148
				4	KiB	Sub Klinis	+1	149
				179	KiD	Sub Klinis	+2	150
12/02/2007	15	Pak Bambang	Pangkringan	2	KiB	Sub Klinis	+2	151
				2	KaB	Sub Klinis	+2	152
				2	KiD	Sub Klinis	+2	153
				0	KaB	Sub Klinis	+1	154
				4	KiD	Sub Klinis	+1	155
				4	KiB	Sub Klinis	+1	156
				4	KaB	Sub Klinis	+1	157
				5	KiB	Sub Klinis	+1	158
				5	KiD	Sub Klinis	+1	159
				5	KaD	Sub Klinis	+2	160
				5	KaB	Sub Klinis	+2	161
				7	KaB	Sub Klinis	+2	162
				7	KiD	Sub Klinis	+2	163
				7	KaD	Sub Klinis	+2	164
				7	KiB	Sub Klinis	+2	165
				8	KaD	Sub Klinis	+2	166
				8	KiB	Sub Klinis	+2	167
				8	KiD	Sub Klinis	+1	168
				8	KaB	Sub Klinis	+1	169
				9	KiB	Sub Klinis	+1	170
				9	KaD	Sub Klinis	+1	171

lanjutan...

Tanggal	No	Nama	Desa	No Unit	Kuartir	Mastitis	CMT	No Sampel
				9	KiD	Sub Klinis	+2	172
				10	KaD	Sub Klinis	+2	173
				10	KaB	Sub Klinis	+3	174
				10	KiB	Sub Klinis	+2	175
				10	KiD	Sub Klinis	+1	176
12/02/2007	16	Pak Sauri	Pangkringan	11	KiB	Sub Klinis	+1	177
				11	KaB	Sub Klinis	+2	178
				11	KaD	Sub Klinis	+2	179
				12	KaD	Sub Klinis	+1	180
				12	KiD	Sub Klinis	+2	181
				12	KaB	Sub Klinis	+1	182
				12	KiB	Sub Klinis	+1	183
12/02/2007	17	Pak Didi	Pangkringan	13	KiB	Sub Klinis	+3	184
				13	KaB	Sub Klinis	+1	185
				13	KiD	Sub Klinis	+3	186
				13	KaD	Sub Klinis	+2	187
				14	KaD	Sub Klinis	+2	188
				14	KaD	Sub Klinis	+2	189
				14	KiD	Sub Klinis	+1	190
				14	KiB	Sub Klinis	+1	191
12/02/2007	18	Pak Suroso	Pangkringan	15	KaD	Sub Klinis	+2	192
				15	KiD	Sub Klinis	+2	193
				15	KiB	Sub Klinis	+2	194
				15	KaB	Sub Klinis	+2	195

lanjutan...

No Sampel	Staphylococcus	Coliform	Streptococcus	Pseudomonas	Corynebacterium	Bacillus
173	-	-	SB	-	-	-
174	-	-	B	-	-	-
175	B	-	B	-	-	-
176	Sd	SSt	SB	-	-	-
177	B	-	-	-	-	-
178	B	-	-	-	-	-
179	B	-	B	-	-	-
180	B	Sd	-	-	-	-
181	B	-	-	-	-	-
182	B	SB	-	-	-	-
183	B	Sd	-	-	-	-
184	Sd	-	B	-	-	-
185	B	-	B	-	-	-
186	B	-	-	-	-	-
187	Sd	-	-	-	-	-
188	B	-	-	-	-	-
189	B	-	B	-	-	-
190	B	-	-	-	-	-
191	B	-	-	-	-	-
192	B	-	-	-	-	-
193	Sd	-	Sd	-	-	-
194	Sd	-	Sd	-	-	-
195	B	-	B	-	-	-
196	-	-	-	-	-	-
197	B	-	Sd	-	-	-
198	SB	-	-	-	-	-
199	St	-	-	-	-	-
200	B	-	-	-	-	-

SSt : sangat sedikit

St : sedikit

Sd : sedang

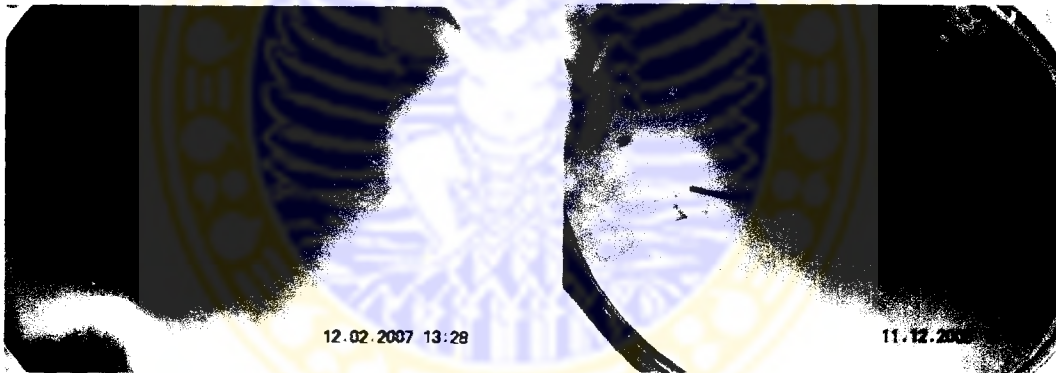
B : banyak

SB : sangat banyak

lanjutan...

Tanggal	No	Nama	Desa	No Unit	Kuartir	Mastitis	CMT	No Sampel
				0	KaD	Sub Klinis	+2	196
12/02/2007	19	Pak Hasan	Pangkringan	0	KiB	Sub Klinis	+3	197
				0	KaB	Sub Klinis	+3	198
				0	KaB	Sub Klinis	+3	199
				0	KiD	Sub Klinis	+3	200

Lampiran 2. Gambar Hasil Reaksi CMT



Reaksi CMT Trace

Reaksi CMT +1



Reaksi CMT +2



Reaksi CMT +3

Lampiran 3. Cara Pembuatan *Blood Agar* (BA) (Atlas, 1997, Rosilawati dkk., 2003)

Komposisi *Blood Agar Base Difco* per liter:

<i>Beef extract</i>	500.0g
<i>Agar</i>	15.0g
<i>Tryptose</i>	10.0g
<i>Sodium chloride</i>	5.0g
pH 6.8 ± 0.2 pada 25°C	

Cara kerja:

1. Larutkan 38 gram media ke dalam 1 liter air suling
2. Panaskan sambil diaduk hingga larut sempurna
3. Larutan kemudian disterilkan dengan autoclave pada tekanan 15 psi dengan suhu 121°C selama 15 menit
4. Larutan didinginkan hingga kira-kira suhunya 50°C
5. Darah kelinci sebanyak 5-10% secara steril ditambahkan ke dalam larutan media agar
6. Campur dengan baik dan larutan kemudian dituangkan secara steril ke dalam cawan Petri dengan volume $\pm 15\text{-}20 \text{ ml}$
7. Biarkan media menjadi dingin
8. Inkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam (uji sterilitas)
9. Simpan media yang tidak terkontaminasi dalam lemari es sampai diperlukan

Lampiran 4. Cara Pembuatan *MacConkey Agar* (MCA) (Atlas, 1997, Rosilawati dkk., 2003)

Komposisi *MacConkey Agar Difco* per liter:

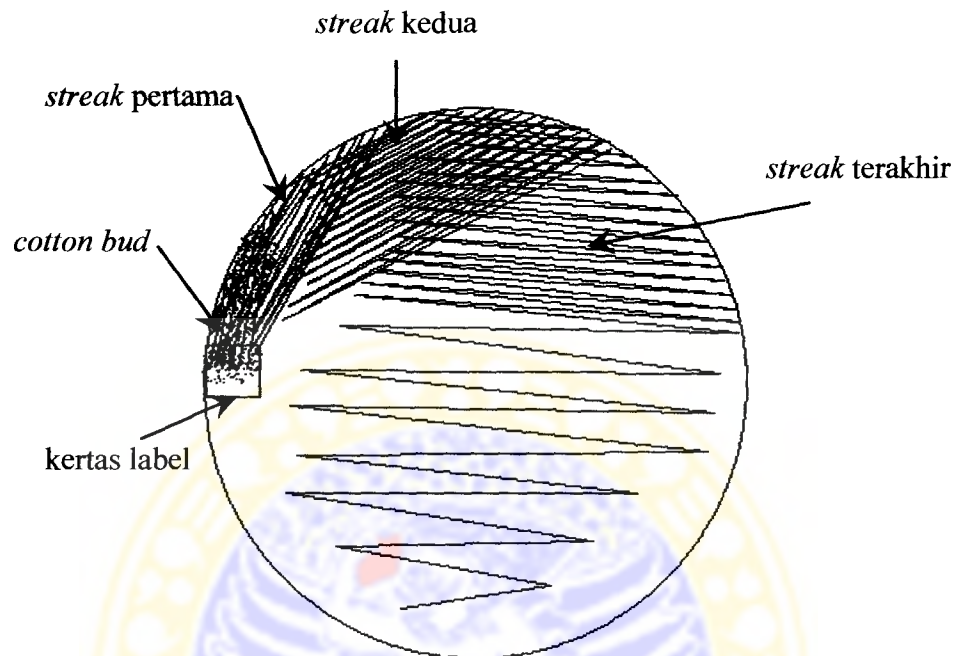
<i>Peptone</i>	17.0g
<i>Proteose peptone</i>	3.0g
<i>Lactose</i>	10.0g
<i>Sodium chloride</i>	5.0g
<i>Bile salts No. 3</i>	1.5g
<i>Agar</i>	13.5g
<i>Neutral red</i>	0.03g
<i>Crystal violet</i>	0.001g

pH 7.1 ± 0.2 pada 25°C

Cara kerja:

1. Larutkan 50 gram media ke dalam 1 liter air suling
2. Panaskan sambil diaduk hingga larut sempurna
3. Larutan kemudian disterilkan dengan autoclave pada tekanan 15 psi dengan suhu 121°C selama 15 menit
4. Larutan kemudian dituangkan secara steril ke dalam cawan Petri dengan volume $\pm 15\text{-}20 \text{ ml}$
5. Biarkan media menjadi dingin
6. Inkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam (uji sterilitas)
7. Simpan media yang tidak terkontaminasi dalam lemari es sampai diperlukan

Lampiran 5. Gambar Cara Isolasi Bakteri dengan *Streak* (Johnson and Case, 1995; Staf Pengajar Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi, 2002)



Lampiran 6. Gambar Bahan Penelitian



Gambar 1. Sampel susu (kiri), media BA-MCA, ose, pembakar Bunsen (kanan)



Gambar 2. Media MSA, EMBA (kiri), zat warna untuk pewarnaan Gram (kanan)

Lampiran 7. Cara Pembuatan *Nutrient Agar* (NA) (Rosilawati dkk., 2003,
Cappucino dan Sherman, 2005)

Komposisi *Nutrient Agar Difco* per liter:

<i>Peptone</i>	15.0g
<i>Agar</i>	15.0g
<i>Yeast extract</i>	2.0g
<i>Sodium chloride</i>	5.0g
pH 7.4 ± 0.2 pada 25°C	

Cara kerja:

1. Larutkan 28 gram media ke dalam 1 liter air suling
2. Panaskan sambil diaduk hingga larut sempurna
3. Larutan kemudian disterilkan dengan *autoclave* pada tekanan 15 psi dengan suhu 121°C selama 15 menit
4. Larutan kemudian dituangkan secara steril ke dalam cawan Petri dengan volume $\pm 15\text{-}20 \text{ ml}$
5. Biarkan media menjadi dingin
6. Inkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam (uji sterilitas)
7. Simpan media yang tidak terkontaminasi dalam lemari es sampai diperlukan

Lampiran 8. Cara Pewarnaan Gram (Beishir, 1991, Johnson dan Case, 1995,
Rosilawati dkk., 2003)

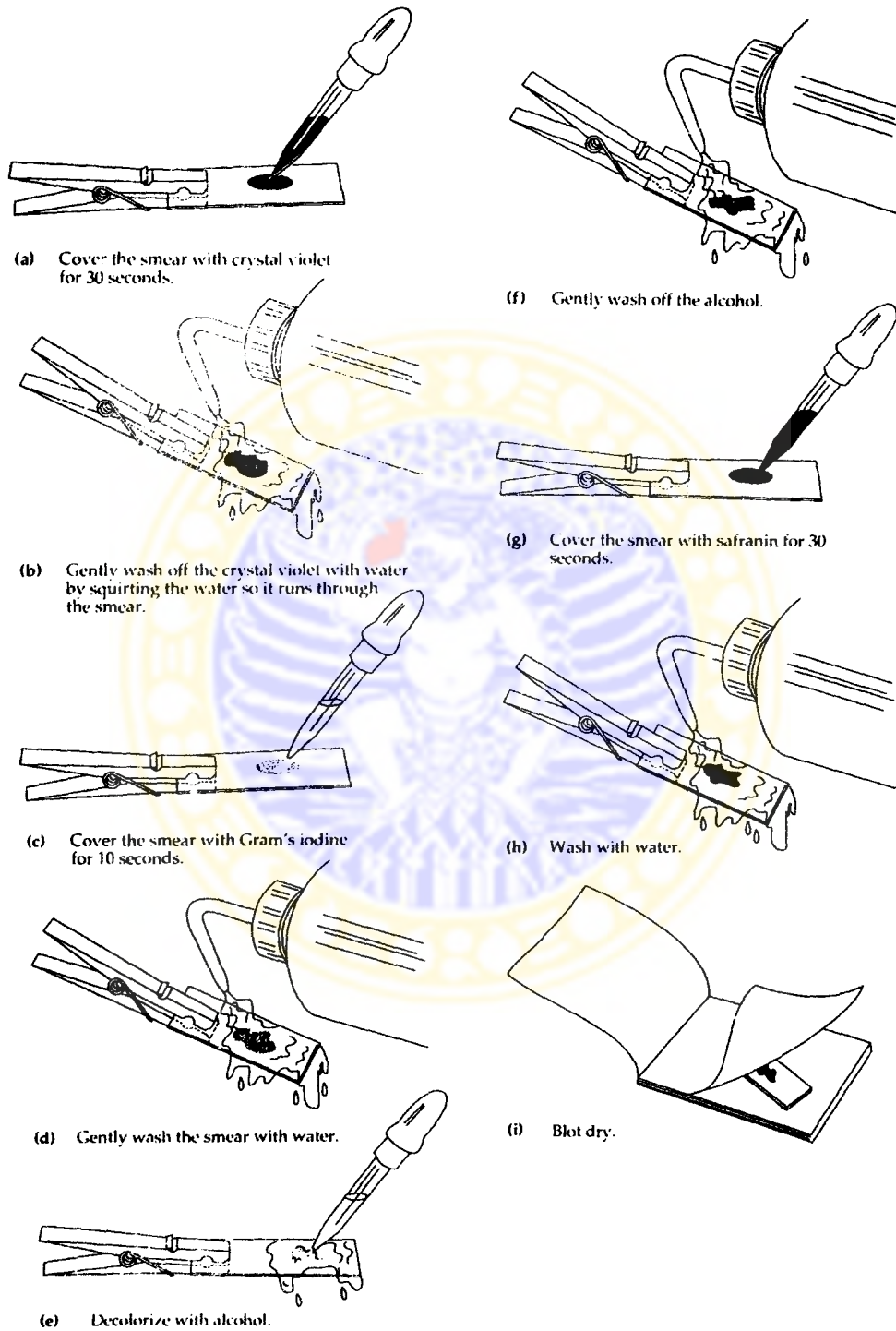
Bahan:

- gelas obyek
- ose
- pembakar Bunsen
- isolat bakteri
- kristal violet
- lugol
- alkohol aseton
- safranin

Cara kerja:

1. Buat sediaan oles dan fiksasi di atas api sampai kering
2. Warnai dengan kristal violet selama dua menit
3. Sisa zat warna dibuang kemudian cuci dengan air mengalir
4. Berikan larutan lugol dan biarkan selama satu menit
5. Sisa lugol pada gelas obyek dibuang dan cuci dengan air mengalir
6. Beri alkohol aseton selama 10-20 detik sampai zat warna kristal violet hilang
7. Cuci dengan air mengalir
8. Beri safranin pada gelas obyek dan biarkan selama 30 detik
9. Sisa safranin dibuang dan cuci dengan air mengalir
10. Gelas obyek kemudian dikeringkan dengan kertas saring
11. Beri emersi oil dan periksa dengan mikroskop dengan pembesaran 1000x

Lampiran 9. Gambar Skema Proses Pewarnaan Gram (Johnson dan Case, 1995)



Lampiran 10. Hasil Isolasi Primer Bakteri Susu

No Sampel	Staphylococcus	Coliform	Streptococcus	Pseudomonas	Corynebacterium	Bacillus
1	Sd	-	-	-	-	-
2	-	SB	-	-	-	-
3	St	-	-	-	-	-
4	-	Sd	-	-	-	-
5	-	B	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	Sd
7	-	-	SB	-	-	-
8	-	-	B	-	-	-
9	-	-	-	-	St	-
10	-	-	SB	-	-	-
11	-	-	-	-	-	SB
12	B	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-
17	-	SB	B	-	-	-
18	-	SB	-	-	-	-
19	B	-	-	-	-	-
20	SSt	-	-	-	-	-
21	SSt	-	Sd	-	-	-
22	SB	-	-	-	-	-
23	-	-	SB	-	-	-
24	-	-	-	-	-	SB
25	St	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	SSt
27	St	-	St	-	-	-
28	Sd	SSt	SB	-	-	-
29	-	Sd	-	-	-	-
30	-	Sd	SB	-	-	-
31	-	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-	-
38	-	-	-	-	-	-
39	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-
41	-	-	SB	-	-	-
42	-	-	-	-	-	-
43	-	-	-	-	-	-

lanjutan...

No Sampel	Staphylococcus	Coliform	Streptococcus	Pseudomonas	Corynebacterium	Bacillus
44	-	-	-	-	-	-
45	St	-	-	-	-	-
46	Sd	-	-	-	-	-
47	-	-	-	-	-	-
48	St	-	-	-	-	B
49	-	-	-	-	-	-
50	B	-	-	-	-	B
51	-	-	-	-	-	-
52	-	-	-	-	-	Sd
53	-	-	SB	-	-	-
54	-	B	-	-	-	-
55	-	Sd	SB	-	-	-
56	-	B	-	-	-	-
57	-	-	SB	-	-	B
58	B	B	-	-	-	-
59	-	-	-	-	-	-
60	B	-	-	-	-	-
61	B	-	B	-	-	-
62	-	-	SB	-	-	-
63	-	B	-	-	-	-
64	-	-	-	-	-	B
65	-	B	B	-	-	SB
66	SB	-	-	-	-	-
67	-	SB	-	-	-	-
68	-	B	-	-	-	-
69	-	SB	St	-	-	-
70	-	SB	-	-	-	-
71	SB	-	B	-	-	-
72	-	-	SB	-	-	-
73	-	B	-	-	-	-
74	-	St	-	-	-	-
75	-	Sd	-	-	-	-
76	-	SB	-	-	-	-
77	B	-	SB	-	-	-
78	-	B	-	-	-	-
79	B	B	-	-	-	-
80	B	Sd	-	-	-	-
81	-	B	-	-	-	Sd
82	SB	-	-	-	-	-
83	B	Sd	-	-	-	-
84	-	SB	-	-	-	-
85	-	SB	-	-	-	-
86	-	SB	-	-	-	-

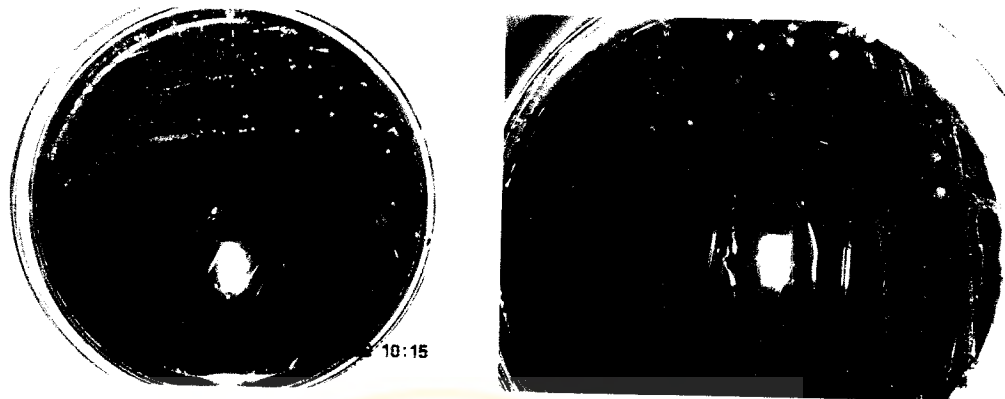
lanjutan...

No Sampel	Staphylococcus	Coliform	Streptococcus	Pseudomonas	Corynebacterium	Bacillus
87	SB	B	-	-	-	-
88	-	B	-	-	-	-
89	SB	Sd	-	-	-	-
90	B	-	-	-	-	-
91	-	-	Sd	-	-	SB
92	Sd	-	-	-	-	-
93	Sd	-	Sd	-	-	-
94	SSt	-	-	-	-	-
95	Sd	-	-	-	-	-
96	-	-	-	-	-	-
97	-	-	-	-	-	-
98	-	-	-	-	-	Sd
99	Sd	SB	-	-	-	SB
100	St	-	-	-	-	-
101	Sd	-	-	-	-	-
102	Sd	-	-	-	-	-
103	B	-	-	-	-	-
104	Sd	-	-	-	-	-
105	B	-	-	-	-	-
106	B	-	-	-	-	-
107	St	-	-	-	-	-
108	SB	-	B	-	-	-
109	-	-	SB	-	-	-
110	-	-	-	-	-	-
111	-	-	-	-	-	Sd
112	-	-	-	-	-	-
113	St	-	-	-	-	-
114	-	-	-	-	-	-
115	St	-	-	-	-	-
116	St	-	-	-	-	-
117	-	SB	-	-	-	-
118	-	-	-	-	-	-
119	-	-	-	-	-	-
120	-	-	Sd	-	-	SB
121	-	B	-	-	-	-
122	Sd	-	-	-	-	-
123	-	B	-	-	-	-
124	St	-	-	-	-	-
125	-	-	-	-	-	-
126	-	-	-	-	-	-
127	-	-	-	-	-	-
128	SB	-	-	-	-	-
129	-	-	-	-	-	Sd

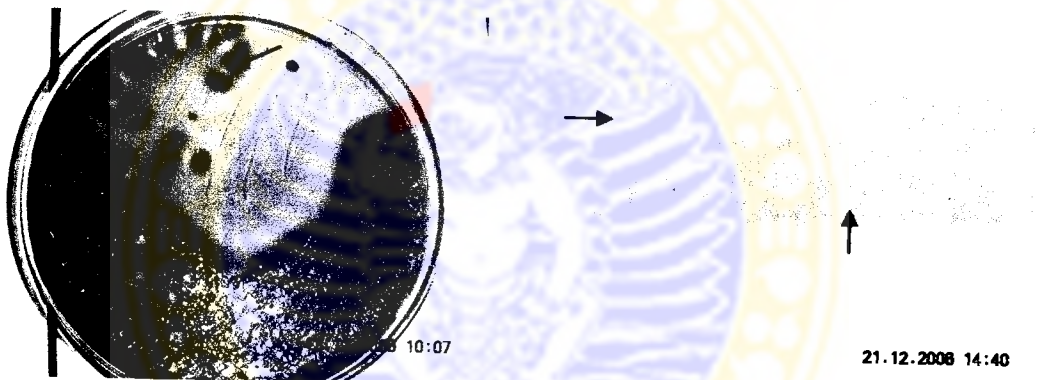
lanjutan...

No Sampel	Staphylococcus	Coliform	Streptococcus	Pseudomonas	Corynebacterium	Bacillus
130	-	St	-	-	-	-
131	-	St	B	-	-	-
132	-	-	-	-	-	SB
133	St	SSt	-	-	-	-
134	B	Sd	-	-	-	-
135	B	-	-	-	-	-
136	-	St	-	-	-	-
137	B	-	-	-	-	-
138	Sd	SSt	B	-	-	-
139	St	St	SB	-	-	-
140	Sd	St	-	-	-	-
141	-	St	-	-	-	-
142	-	-	-	-	-	B
143	-	-	B	-	-	-
144	Sd	-	-	-	-	-
145	B	-	-	-	-	-
146	-	SB	-	-	-	-
147	-	-	-	-	-	Sd
148	-	SB	-	-	-	-
149	St	-	-	-	-	-
150	-	-	-	-	-	Sd
151	B	-	St	-	-	-
152	B	-	-	-	-	-
153	B	St	-	-	-	-
154	B	-	B	-	-	-
155	B	-	-	-	-	-
156	Sd	-	B	-	-	-
157	B	-	B	-	-	-
158	SB	-	-	-	-	-
159	Sd	St	-	-	-	-
160	B	St	-	-	-	-
161	B	-	-	-	-	-
162	B	-	-	-	-	-
163	SSt	-	-	-	-	-
164	-	B	-	-	-	-
165	-	Sd	-	-	-	-
166	Sd	-	-	-	-	-
167	-	-	SB	-	-	-
168	B	-	-	-	-	-
169	-	Sd	-	-	-	-
170	Sd	Sd	-	-	-	-
171	B	-	-	-	-	-
172	B	-	-	-	-	-

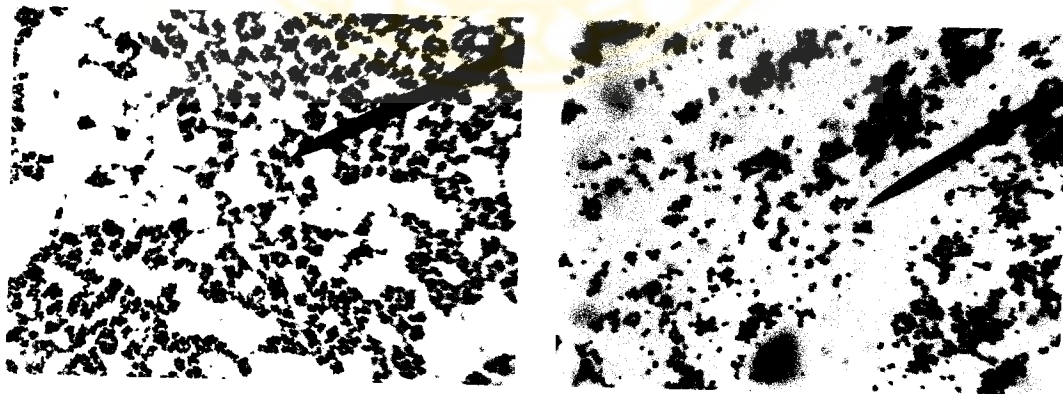
Lampiran 11. Gambar Hasil Isolasi Primer, Uji Katalase dan Pewarnaan Gram



Gambar 1. Koloni stafilocokus (kiri), koloni streptokokus dan koliform (kanan) pada BA



Gambar 2. Koloni koliform pada MCA (kiri), hasil uji katalase positif (kanan)



Gambar 3. Hasil Pewarnaan Gram menunjukkan Gram positif *Staphylococcus sp.*

Lampiran 12. Cara Pembuatan Plasma Darah (Bijanti dkk., 2002)

Cara kerja:

1. Siapkan alat yang telah disterilkan untuk mengambil darah, yaitu tabung reaksi+tutup karet, spuit+jarum, kapas alkohol serta larutan EDTA 10% dalam air suling steril sebagai antikoagulan
2. Pengambilan darah pada kelinci melalui vena pada telinga atau pada jantung
3. Daerah sekitar vena atau jantung dibersihkan dengan alkohol sebelum pengambilan darah
4. Darah yang telah diambil dengan spuit kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan edta, dengan komposisi 0,05 ml larutan edta untuk 5 ml darah, kocok perlahan hingga merata
5. Larutan darah kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 15 menit
6. Plasma darah yang berupa larutan bening diatas gumpalan darah kemudian diambil dan dibagi-bagi ke dalam beberapa tabung reaksi sebanyak 0,5 ml dengan menggunakan pipet steril

Lampiran 13. Cara Pembuatan *Mannitol Salt Agar* (MSA) (Atlas, 1997,
Rosilawati dkk., 2003)

Komposisi *Mannitol Salt Agar Difco* per liter:

<i>Sodium chloride</i>	75.0g
<i>Agar</i>	15.0g
<i>D-mannitol</i>	10.0g
<i>Pancreatic digest of casein</i>	5.0g
<i>Peptic digest of animal tissue</i> ...	5.0g
<i>Beef extract</i>	1.0g
<i>Phenol red</i>	0.025g

pH 7.4 ± 0.2 pada 25°C

Cara kerja:

1. Larutkan 111 gram media ke dalam 1 liter air suling
2. Panaskan sambil diaduk hingga larut sempurna
3. Larutan kemudian disterilkan dengan autoclave pada tekanan 15 psi dengan suhu 121°C selama 15 menit
4. Larutan kemudian dituangkan secara steril ke dalam cawan Petri dengan volume $\pm 15\text{-}20$ ml
5. Biarkan media menjadi dingin
6. Inkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam (uji sterilitas)
7. Simpan media yang tidak terkontaminasi dalam lemari es sampai diperlukan

Lampiran 14. Cara Pembuatan *Voges Proskauer (VP) Medium* (Atlas, 1997,
Rosilawati dkk., 2003)

Komposisi *Voges Proskauer Medium Difco* per liter:

<i>Peptone</i>	5.0g
<i>Glucose</i>	5.0g
<i>Phosphate buffer</i>	5.0g
pH 7.5 ± 0.2 pada 25°C	

Cara kerja:

1. Larutkan 15 gram media ke dalam 1 liter air suling
2. Larutan dicampur hingga rata kemudian dituangkan ke dalam tabung reaksi dengan volume ± 0.5 -1 ml
3. Larutan kemudian disterilkan dengan autoclave pada tekanan 15 psi dengan suhu 121°C selama 15 menit
4. Biarkan media menjadi dingin
5. Inkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam (uji sterilitas)
6. Simpan media yang tidak terkontaminasi dalam lemari es sampai diperlukan

Reagen VP (*Barritt's Reagent*) (Beishir, 1991, Koneman *et al.*, 1992):

1. Alpha-naphthol (α -Naphthol) 5.0 g
Absolute ethanol 100.0 ml
– Campurkan α -Naphthol ke dalam ethanol kemudian aduk hingga merata.
2. Potassium hydroxide (KOH) 40.0 g
Creatine 0.3 g
Distilled water 100.0 ml
– Campurkan KOH ke dalam air suling, kemudian tambahkan creatine dan aduk hingga merata.

Lampiran 15. Hasil Identifikasi *Staphylococcus sp.*

No Sampel	Jenis Mastitis	CMT	Jumlah	Warna Koloni	Tipe Hemolisis	Catalase	Coagulase	MSA	VP
1	Sub Klinis	+1	Sd	putih	gamma	+	-	-	-
3	Sub Klinis	+1	St	putih	gamma	+	-	-	-
12	Sub Klinis	+2	B	kuning	beta	+	+	+	+
19	Sub Klinis	+2	B	putih	beta	+	-	-	-
20	Sub Klinis	+1	SSt	putih	Alfa	+	-	-	-
21	Sub Klinis	+1	SSt	putih	beta	+	-	-	-
22	Sub Klinis	+2	SB	putih	beta	+	-	-	-
25	Sub Klinis	+1	St	putih	gamma	+	-	+	+
27	Sub Klinis	+2	St	putih	alfa	+	-	-	-
28	Sub Klinis	+3	Sd	putih	beta	+	-	-	-
45	Sub Klinis	+1	St	putih	gamma	+	-	-	-
46	Sub Klinis	+1	Sd	putih	alfa	+	-	-	+
48	Sub Klinis	+1	St	putih	gamma	+	-	-	-
50	Sub Klinis	+1	B	putih	gamma	+	-	+	+
58	Sub Klinis	+1	B	putih	gamma	+	-	-	-
60	Sub Klinis	+1	B	putih	beta	+	-	+	+
61	Sub Klinis	+1	B	putih	beta	+	-	-	+
66	Sub Klinis	+2	SB	putih	beta	+	-	+	+
71	Sub Klinis	+2	SB	putih	gamma	+	-	-	-
77	Klinis	+2	B	putih	gamma	+	-	-	-
79	Sub Klinis	+1	B	putih	gamma	+	-	-	-
80	Sub Klinis	+1	B	putih	gamma	+	-	+	+
82	Sub Klinis	+1	SB	putih	gamma	+	-	+	+
83	Sub Klinis	+2	B	putih	gamma	+	-	-	-
87	Sub Klinis	+2	SB	putih	gamma	+	-	-	-
89	Sub Klinis	+1	SB	kuning	gamma	+	-	+	+
90	Sub Klinis	+2	B	putih	gamma	+	-	+	+
92	Sub Klinis	+1	Sd	putih	alfa	+	-	+	+
93	Sub Klinis	+1	Sd	putih	beta	+	-	+	+
94	Sub Klinis	+1	SSt	putih	gamma	+	-	+	+
95	Sub Klinis	+1	Sd	putih	beta	+	-	+	+
99	Sub Klinis	+2	Sd	putih	beta	+	-	+	+
100	Sub Klinis	+2	St	putih	beta	+	-	-	+
101	Sub Klinis	+1	Sd	putih	beta	+	-	+	+
102	Sub Klinis	+1	Sd	putih	gamma	+	-	-	-
103	Sub Klinis	+2	B	putih	alfa	+	-	-	+
104	Sub Klinis	+2	Sd	putih	alfa	+	-	-	-
105	Sub Klinis	+2	B	putih	alfa	+	-	-	+
106	Sub Klinis	+2	B	putih	gamma	+	-	-	-
107	Sub Klinis	+2	St	putih	alfa	+	-	-	-
108	Klinis	+3	SB	putih	beta	+	-	-	+
113	Sub Klinis	+1	St	putih	beta	+	-	+	+
115	Sub Klinis	+1	St	putih	gamma	+	-	-	-

lanjutan...

No Sampel	Jenis Mastitis	CMT	Jumlah	Warna Koloni	Tipe Hemolisis	Catalase	Coagulase	MSA	VP
116	Sub Klinis	+2	St	putih	beta	+	-	-	+
122	Sub Klinis	+2	Sd	putih	beta	+	-	-	-
124	Sub Klinis	+1	St	putih	alfa	+	-	-	-
128	Sub Klinis	+2	SB	putih	alfa	+	-	-	-
133	Sub Klinis	+1	St	putih	beta	+	-	-	-
134	Sub Klinis	+1	B	putih	gamma	+	-	+	+
135	Sub Klinis	+1	B	putih	beta	+	-	+	+
137	Sub Klinis	+1	B	putih	alfa	+	-	-	+
138	Sub Klinis	+2	Sd	putih	alfa	+	-	+	+
139	Sub Klinis	+1	St	putih	gamma	+	-	+	+
140	Sub Klinis	+1	Sd	putih	beta	+	-	+	+
144	Sub Klinis	+1	Sd	putih	beta	+	-	+	+
145	Sub Klinis	+2	B	putih	beta	+	-	-	+
149	Sub Klinis	+1	St	putih	gamma	+	-	+	+
151	Sub Klinis	+2	B	putih	alfa	+	+	+	+
152	Sub Klinis	+2	B	putih	alfa	+	+	+	+
153	Sub Klinis	+2	B	putih	gamma	+	+	-	+
154	Sub Klinis	+1	B	putih	gamma	+	+	-	+
155	Sub Klinis	+1	B	kuning	alfa	+	+	+	+
156	Sub Klinis	+1	Sd	putih	beta	+	-	-	-
157	Sub Klinis	+1	B	putih	gamma	+	-	-	-
158	Sub Klinis	+1	SB	putih	beta	+	+	+	+
159	Sub Klinis	+1	Sd	putih	beta	+	-	+	+
160	Sub Klinis	+2	B	kuning	alfa	+	+	+	+
161	Sub Klinis	+2	B	putih	alfa	+	-	-	+
162	Sub Klinis	+2	B	putih	alfa	+	-	-	-
163	Sub Klinis	+2	SSt	putih	gamma	+	-	-	-
166	Sub Klinis	+2	Sd	putih	gamma	+	-	-	-
168	Sub Klinis	+1	B	putih	gamma	+	+	+	+
170	Sub Klinis	+1	Sd	putih	alfa	+	+	+	+
171	Sub Klinis	+1	B	putih	gamma	+	-	+	+
172	Sub Klinis	+2	B	putih	alfa	+	-	-	-
175	Sub Klinis	+2	B	putih	gamma	+	+	+	+
176	Sub Klinis	+1	Sd	putih	gamma	+	+	+	+
177	Sub Klinis	+1	B	putih	gamma	+	+	+	+
178	Sub Klinis	+2	B	putih	gamma	+	+	+	+
179	Sub Klinis	+2	B	putih	gamma	+	+	+	+
180	Sub Klinis	+1	B	putih	gamma	+	+	+	+
181	Sub Klinis	+2	B	putih	gamma	+	+	+	+
182	Sub Klinis	+1	B	putih	gamma	+	-	-	+
183	Sub Klinis	+1	B	putih	alfa	+	-	-	-
184	Sub Klinis	+3	Sd	putih	alfa	+	+	+	+
185	Sub Klinis	+1	B	kuning	alfa	+	+	+	+

lanjutan...

No Sampel	Jenis Mastitis	CMT	Jumlah	Warna Koloni	Tipe Hemolisis	Catalase	Coagulase	MSA	VP
186	Sub Klinis	+3	B	kuning	gamma	+	+	+	+
187	Sub Klinis	+2	Sd	putih	alfa	+	+	+	+
188	Sub Klinis	+2	B	putih	beta	+	-	-	-
189	Sub Klinis	+2	B	putih	alfa	+	+	+	-
190	Sub Klinis	+1	B	putih	alfa	+	+	+	+
191	Sub Klinis	+1	B	putih	alfa	+	-	-	+
192	Sub Klinis	+2	B	putih	alfa	+	-	-	-
193	Sub Klinis	+2	Sd	putih	alfa	+	-	-	-
194	Sub Klinis	+2	Sd	putih	alfa	+	-	-	-
195	Sub Klinis	+2	B	putih	alfa	+	-	-	-
197	Sub Klinis	+3	B	putih	beta	+	+	+	+
198	Sub Klinis	+3	SB	putih	gamma	+	-	+	-
199	Sub Klinis	+3	St	kuning	gamma	+	+	+	+
200	Sub Klinis	+3	B	kuning	beta	+	+	+	+



Lampiran 16. Uji Chi-square

Uji *Chi-square* termasuk salah satu alat uji dalam statistik yang sering digunakan dalam praktek (Santoso, 1999).

Nilai derajat kebebasan dapat dihitung dengan rumus (Budiarto, 1984, Djarwanto, 2003):

$$dk = (r - 1) \times (c - 1)$$

dimana: r = jumlah baris (*row*).
 c = jumlah kolom (*column*).

Rumus uji *Chi-square* untuk tabel 2x2 menurut Djarwanto (2003):

$$\chi^2 = \frac{n(ad - bc)^2}{(a + b)(c + d)(a + c)(b + d)}$$

Tabel 1. Tabel *Chi-square* 2x2

	I	II	
1	a	b	a + b
2	c	d	c + d
	a + c	b + d	n

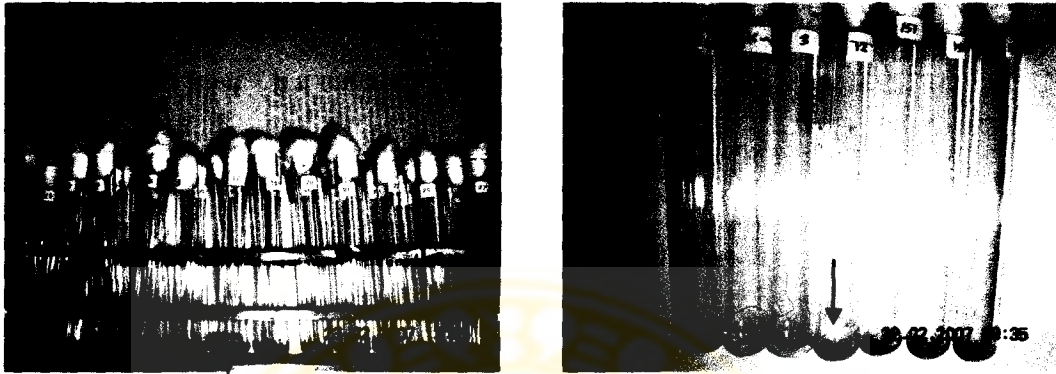
Berdasarkan tabel *Chi-square* 2x2 diatas, maka:

n = jumlah sampel.
 a = nilai pengamatan pada kolom a.
 b = nilai pengamatan pada kolom b.
 c = nilai pengamatan pada kolom c.
 d = nilai pengamatan pada kolom d.

Kriteria keputusan pengujiannya dinyatakan dengan:

Ho diterima apabila : χ^2 hitung $\leq \chi^2 \alpha$; dk (r-1) (c-1).
 Ho ditolak apabila : χ^2 hitung $> \chi^2 \alpha$; dk (r-1) (c-1).

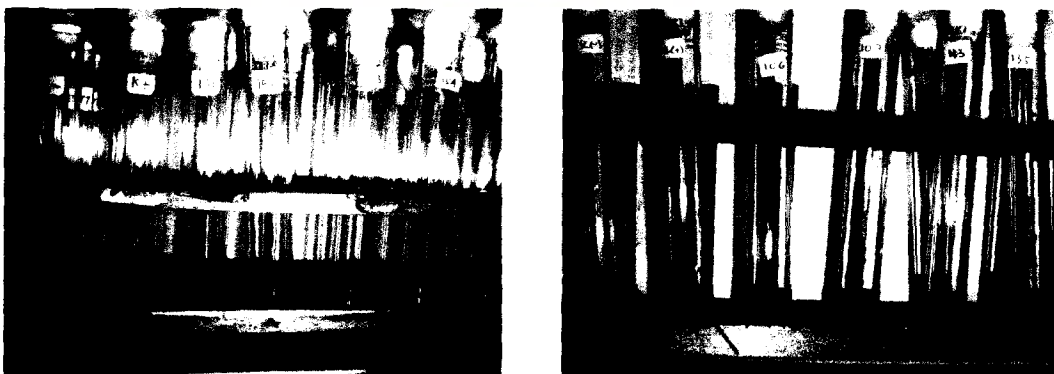
Lampiran 17. Gambar Hasil Uji Koagulasi, Uji Fermentasi Mannitol dan
Deteksi Produksi Asetoin



Gambar 1. Hasil Uji Koagulasi. Koagulasi positif ditunjukkan arah panah (kanan)



Gambar 2. Hasil fermentasi mannitol pada MSA. MSA positif ditunjukkan arah panah



Gambar 3. Hasil Deteksi Produksi Asetoin dengan Uji VP. Positif asetoin ditunjukkan warna merah pada larutan media agar (arah panah) (kanan)

Lampiran 18. Hasil Perbandingan Uji Koagulasi, Uji Fermentasi Mannitol dan Deteksi Produksi Asetoin

No Sampel	Koagulasi	Mannitol	Asetoin
12	+	+	+
151	+	+	+
152	+	+	+
153	+	-	+
154	+	-	+
155	+	+	+
158	+	+	+
160	+	+	+
168	+	+	+
170	+	+	+
175	+	+	+
176	+	+	+
177	+	+	+
178	+	+	+
179	+	+	+
180	+	+	+
181	+	+	+
184	+	+	+
185	+	+	+
186	+	+	+
187	+	+	+
189	+	+	-
190	+	+	+
197	+	+	+
199	+	+	+
200	+	+	+

Lampiran 19. Hasil Uji *Chi-square*

	positif	negatif	Jumlah
Fermentasi Mannitol	24 a	2 b	26
Produksi Asetoin	25 c	1 d	26
Jumlah	49	3	52

Nilai derajat kebebasan (dk) dihitung menurut rumus (Budiarto, 1984, Djarwanto, 2003): $dk = (r-1) \times (c-1)$, sehingga: $dk = (2-1) \times (2-1)$

$$dk = 1$$

Rumus uji *Chi-square* untuk tabel 2x2 menurut Djarwanto (2003):

$$\chi^2 = \frac{n(|ad - bc|)^2}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}$$

sehingga:

$$\chi^2 = \frac{52(|(24)(1) - (2)(25)|)^2}{(24+2)(25+1)(24+25)(2+1)}$$

$$\chi^2 = \frac{52(|24 - 50|)^2}{(26)(26)(49)(3)}$$

$$\chi^2 = \frac{52(676)}{99372}$$

$$\chi^2 = \frac{35152}{99372}$$

$$\chi^2 = 0.3537 \quad \chi^2 \text{ tabel } (\alpha=0,01; dk=1)=6,6349$$

Kriteria keputusan pengujiannya dinyatakan dengan:

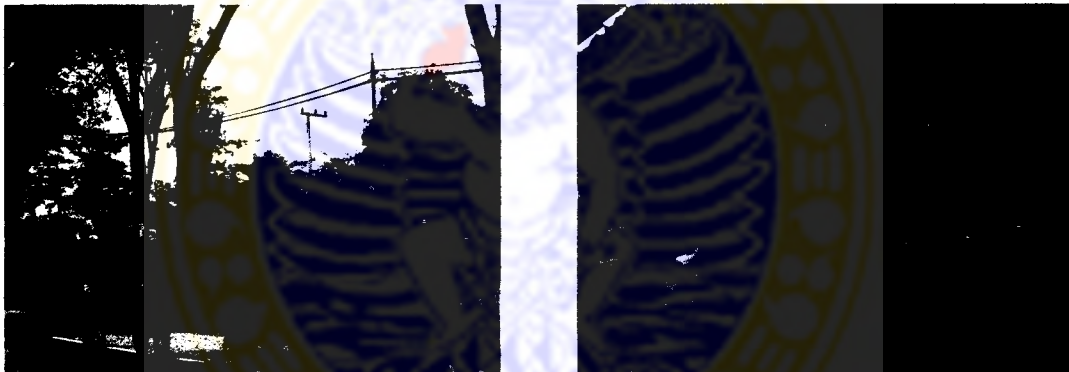
Ho diterima apabila : $\chi^2 \text{ hitung} \leq \chi^2 \alpha; dk (r-1) (c-1)$

Ho ditolak apabila : $\chi^2 \text{ hitung} > \chi^2 \alpha; dk (r-1) (c-1)$

Lampiran 20. Gambar Hasil Pengamatan dan Proses Penelitian



Gambar 1. Foto bersama di depan Dinas Peternakan (kiri) dan KUTT Suka Makmur setelah pengambilan sampel sore hari (kanan)



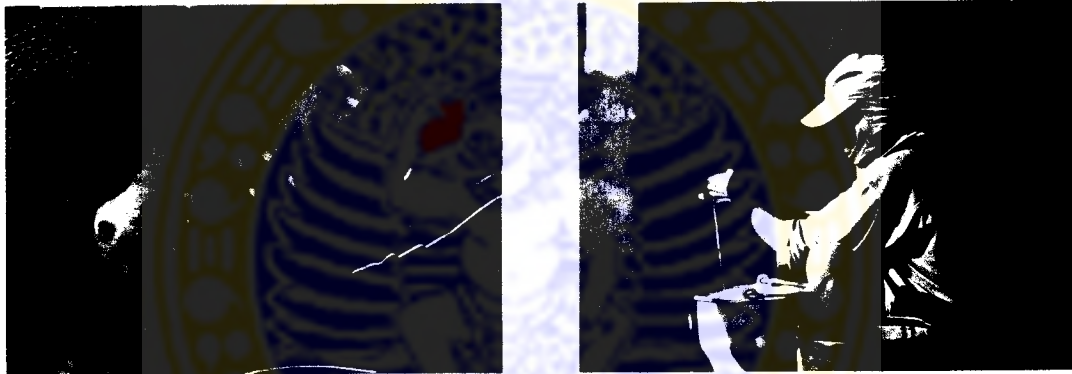
Gambar 2. Para pencari pakan sapi (kiri), pemberian pakan sebelum pemerahan (kanan)



Gambar 3. Kondisi salah satu kandang sapi di wilayah kerja KUTT Suka Makmur (kiri), kandang dibersihkan sebelum proses pemerahan (kanan)



Gambar 4. Saluran pembuangan feses pada salah satu kandang peternak di wilayah kerja KUTT Suka Makmur (kiri), kondisi ambing dengan puting yang telah mati dan mengecil akibat terkena mastitis (kanan)



Gambar 5. Proses Uji CMT (kiri), Proses Pemerahan Susu (kanan)



Gambar 6. Melihat Nomor Unit Sapi (kiri), Foto bersama petugas pos penampungan susu desa Trewung (kanan)



Gambar 7. Pengukuran produksi susu (kiri), Penyaringan susu yang disetorkan para peternak di wilayah kerja KUTT Suka Makmur (kanan)



Gambar 8. Uji BJ pada susu yang disetorkan (kiri), Susu disalurkan melalui selang ke dalam truk tangki penampungan susu yang kemudian disetorkan ke KUTT Suka Makmur (kanan)



Gambar 9. Proses penanaman bakteri susu pada media agar (kiri), Hasil Biakan *Staphylococcus aureus* pada BA yang berwarna kuning keemasan dan bersifat β -hemolisis (kanan)