

LAPORAN HIBAH PENELITIAN
PROYEK DUE-LIKE BATCH III



**PENGEMBANGAN KITT PENDETEKSI
RESIDU ANTIBIOTIKA PADA SUSU**

Oleh :

Benjamin Chr. Tehupuring
Hario Puntodewo S.
Dadik Raharjo

006807141

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA

SURABAYA
DESEMBER 2003

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

RINGKASAN

Residu antibiotika pada susu merupakan salah satu hal yang perlu diperhatikan disamping jumlah dan jenis mikroba pencemar serta bahan-bahan lainnya agar konsumen terhindar dari resiko keracunan akibat mengkonsumsi susu.

Pemeriksaan residu antibiotika pada KUD pengepul susu sampai saat ini belum dapat dilakukan secara rutin mengingat kitt yang sampai saat ini tersedia dipasaran adalah bahan import yang harganya relatif mahal sedangkan pemeriksaan yang tanpa menggunakan kitt import terbentur masalah minimnya sarana dan prasarana laboratorium yang dimiliki oleh KUD.

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan kitt yang harganya lebih murah, tidak memerlukan investasi peralatan yang mahal dan mudah dikerjakan sehingga diharapkan dapat digunakan untuk pengujian residu antibiotika secara rutin pada KUD penerima susu dari peternak.

Dua macam kitt yang dikembangkan pada penelitian ini agar peternak dan KUD sebagai konsumen dapat memilih kitt yang sesuai dengan kebutuhan dan kemampuan yang dimilikinya. Kitt pertama merupakan metode *bioassay*, menggunakan bakteri *B.subtilis* untuk indikatornya, murah dan mudah pengerjaannya meskipun memerlukan waktu inkubasi relatif lama (minimal 3 jam) sedangkan kitt berdasar protein *Stap. aureus* relatif lebih praktis tetapi harganya lebih mahal.

Hasil yang telah dicapai berupa isolat *B.subtilis* yang peka terhadap beberapa macam antibiotika dan isolat *Stap. aureus* serta proteinnya yang dapat dikembangkan untuk menghasilkan kitt.

SUMMARY

The antibiotics residue, is the most important problem in relation with the milk quality, beside the microbial count and the presence of other contaminant substance in the milk. These problems must be avoided or eliminated in order to protect consumers from the intoxication risks by consuming milk.

The control of milk antibiotics residue conducted by the rural dairy cooperation (KUD) is not done continuously yet, because of the lack of laboratory equipment and difficulties to obtain a suitable kit or because of its price.

This work was aimed to develop a kit which is cheap, do not require an expensive tools and easy to operate, so it can be utilized by the farmers or the rural dairy cooperation (KUD) easily.

Two types of kit will be developed in this work, so it can be chosen by the farmers or the rural dairy cooperation (KUD) as consumer. First, is based on the bioassay method, using *B.subtilis* as indicator. This method is cheap, easy to do although needs 3 hours of incubation time, while the second, which is based on the *S.aureus* protein, is more practice but it is expensive.

At this stage, the result obtained was *B.subtilis* isolates which is sensitive to same antibiotics and *S.aureus* isolates and its protein which can used to develop a kit in the next stage.

KATA PENGANTAR

Atas rahmat dan berkah Allah SWT maka kami dapat menyelesaikan laporan proyek penelitian yang dibiayai oleh program DUE-LIKE Batch III dengan judul “ Pengembangan Kitt Pendeteksi Residu Antibiotika Pada Susu”.

Selama penelitian ini, tim peneliti banyak memperoleh bantuan dari berbagai pihak, karena itu pada kesempatan ini kami ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

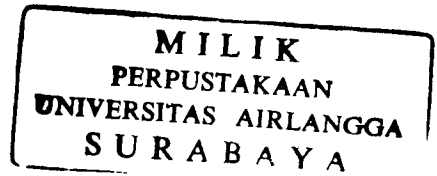
1. Prof. Dr. Ismodiono., MS., Drh., selaku Dekan FKH – Unair.
2. Nunuk Dyah Retno Lastuti MS., Drh., selaku Ketua Program DUE-LIKE FKH – Unair
3. Semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu-persatu dan telah terlibat dan membantu sepenuh hati sejak penyusunan proporsal sampai selesainya proyek ini.

Laporan ini kami sadari banyak terdapat kekurangan dan kami harapkan saran serta kritik demi perbaikan laporan ini.

Semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi kemajuan ilmu pengetahuan

Surabaya, Desember 2003

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR IDENTITAS	i
RINGKASAN	ii
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
BAB II TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	5
2.1. Tujuan Penelitian	5
2.2. Manfaat Penelitian	5
BAB III TINJAUAN PUSTAKA	6
BAB IV METODE PENELITIAN	12
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	15
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	19
6.1. Kesimpulan	19
6.2. Saran	19
DAFTAR PUSTAKA	20
LAMPIRAN	22

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Identifikasi <i>B.subtilis</i> dan uji kepekaan terhadap penicillin	15
Tabel 2. Hasil Isolasi dan Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> dari Sampel susu	16



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Hasil SDS-PAGE dari sentrifugasi yang berbeda Kecepatannya	18



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Isolasi, Identifikasi dan uji Resistensi Staphylococcus aureus	22
Lampiran 2. Hasil lengkap yang didapatkan dari beberapa pengujian.	24
Lampiran 3. Hasil uji lengkap dari uji kerentanan terhadap antibiotika	26



BAB I
PENDAHULUAN



1.1. LATAR BELAKANG

Jawa Timur merupakan salah satu propinsi penghasil susu yang besar, dengan jumlah produksi pada bulan Nopember 2003 mencapai 560 ton per hari dan populasi sapi perahnya mencapai 137.000 yang dimiliki oleh 29.800 peternak (Anonimus, 2003).

Industri persusuan melibatkan petani-peternak, KUD persusuan yang bertindak sebagai pengumpul susu dari peternak dan juga merupakan institusi garis terdepan dalam menguji kualitas dan keamanan susu sebelum dijual ke masyarakat maupun dikirim ke industri pengolah susu.

Susu yang dijual ke masyarakat harus bebas dari residu antibiotika sehingga KUD persusuan seharusnya melakukan pengujian terhadap residu antibiotika ini agar dapat melindungi masyarakat maupun terhindar dari kerugian akibat ditolaknya susu yang disetorkan ke industri susu.

Residu antibiotika pada susu dapat menimbulkan akibat yang merugikan bagi konsumen dengan berbagai aspek, diantaranya : aspek toksikologis dengan akibat terjadinya keracunan dan kerusakan organ tubuh, aspek mikrobiologis dengan akibat terjadinya peningkatan resistensi mikroba terhadap antibiotika dan aspek immunopathologis yang berupa alergi (Winarno dan Rahayu, 1994).

Residu antibiotika pada susu umumnya berasal dari antibiotika yang digunakan untuk maksud pencegahan dan pengobatan penyakit pada hewan, khususnya penyakit mastitis meskipun tidak menutup kemungkinan terdapatnya antibiotika pada susu akibat pemberian antibiotika untuk maksud pengawetan susu.

Hasil penelitian syamsyah (2002) terhadap kasus mastitis klinis maupun sub klinis pada sapi perah di wilayah KUD Rejotangan Tulung Agung menunjukkan adanya 62,11% kasus.

Mastitis disebabkan oleh lebih dari 100 organisme yang berbeda, tetapi 90 – 95 % dari semua kasus mastitis disebabkan oleh empat organisme yang paling sering sebagai agen infeksi yaitu : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* dan *Streptococcus uberis* sehingga penanganan yang paling realitis adalah pengobatan dengan antibiotika disamping penanganan lainnya

Menurut Philphot (1984), Mastitis klinis lebih mudah pendeteksiannya sebab terlihat tanda yang khas seperti adanya kelainan pada susu yang berupa gumpalan atau jonjot-jonjot susu, puting yang terserang terasa panas, terasa keras dan lebih peka terhadap rangsangan sedangkan mastitis sub klinis lebih sulit dideteksi sebab susu yang dihasilkan masih terlihat normal tetapi sebenarnya peternak mengalami kerugian yang cukup besar sebab :

1. Mastitis sub klinis prevalensinya 15 – 40X lebih tinggi dibanding mastitis klinis.
2. Mastitis sub klinis akan berkembang menjadi mastitis klinis.
3. Waktu kejadian yang panjang.
4. Menurunkan produksi susu
5. Berpengaruh terhadap kualitas susu
6. Sulit untuk dideteksi
7. Sering menjadi reservoir untuk terjadinya penularan terhadap hewan lainnya.

Penggunaan antibiotika untuk penanganan mastitis bukan hanya untuk pengobatan mastitis klinis maupun sub klinis tetapi juga diberikan pada hewan sehat setelah pemerahan terakhir pada masa laktasi atau disebut pengobatan pada masa

kering. Pengobatan masa kering dapat menurunkan jumlah kejadian infeksi, mencegah terjadinya infeksi baru selama minggu awal pada masa kering dan merupakan pengobatan yang paling efektif untuk kasus mastitis subklinis. Pengobatan masa kering mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan dengan pengobatan selama masa laktasi diantaranya :

1. Angka rata-rata kesembuhan yang terjadi lebih tinggi dibanding yang diperoleh pada pengobatan selama laktasi.
2. Dosis antibiotika yang besar dapat digunakan dengan aman
3. Waktu retensi antibiotika pada puting lebih lama.
4. Terjadi penurunan angka kejadian infeksi baru selama masa kering.
5. Kerusakan jaringan akibat mastitis kemungkinan dapat sembuh sebelum beranak.
6. Menurunkan angka kejadian mastitis klinis pada sapi yang baru beranak.
7. Menurunkan resiko kontaminasi antibiotika pada susu.

Bakteri penyebab mastitis sebagian besar adalah bakteri golongan gram positif sehingga antibiotika yang digunakan adalah antibiotika yang mempunyai cincin beta laktam. Cincin beta laktam berdasarkan konfigurasi kimianya dapat dibagi menjadi dua kelompok utama yaitu : Penicillin dan Cephalosporin. Kelompok antibiotika yang termasuk Penicillin diantaranya, Penicillin, Cloxacillin, Ampicillin, Amoxicillin dan Hetacillin sedangkan yang termasuk kelompok Cephalosporin termasuk Cephapirin, Cephalexin dan Ceftiofur yang dapat dikelompokkan lagi menjadi generasi pertama, kedua dan generasi ketiga.

P.T. Nestle sebagai industri pengolah susu di Jawa Timur telah memberlakukan syarat tambahan untuk susu yaitu harus bebas residu antibiotika

sehingga KUD persusuan yang sebagai pemasok harus mampu melakukan pengujian terhadap residu antibiotika terhadap susu yang disetorkan oleh para peternaknya.

Pengujian di lapangan haruslah suatu sistem yang murah, mudah dikerjakan, cepat diketahui hasil pemeriksaannya tanpa mengorbankan spesifisitas dan sensitivitas suatu sistem pengujian yang dikerjakan. Penyediaan bahan dan reagen yang dapat memenuhi tuntutan pengguna merupakan komponen yang harus dapat disediakan agar dapat dilakukan pemeriksaan secara rutin dan bertanggung jawab.

Kitt yang sekarang digunakan untuk menguji residu antibiotika pada susu yang dilakukan oleh P.T. Nestle berfungsi untuk mendeteksi residu antibiotika yang mempunyai cincin beta laktam (Beta Star), kitt ini secara cepat dapat mendeteksi adanya residu antibiotika pada susu tetapi harga per sampel pemeriksaan cukup mahal sehingga tidak memungkinkan bagi KUD persusuan untuk melakukan pengujian dengan menggunakan kitt ini.

1.2. RUMUSAN MASALAH

Berdasar permasalahan yang terjadi dalam kaitan dengan pemeriksaan residu antibiotika pada susu, maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan yaitu :

1. Bagaimana membuat kit pendeteksi residu antibiotika yang murah, mudah dan cepat tanpa meninggalkan faktor sensitivitasnya.
2. Bagaimana membuat kit yang dapat mendeteksi beberapa jenis residu antibiotika pada susu secara bersamaan.

BAB II

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

2.1. TUJUAN PENELITIAN.

- Mendapatkan isolat bakteri *Bacillus subtilis* yang dapat digunakan untuk melakukan pengujian residu antibiotika pada susu secara *bioassay*.
- Menemukan isolat *Staphylococcus aureus* yang peka terhadap antibiotika
- Mempersiapkan protein dari isolat *Stap. aureus* untuk dikembangkan menjadi kitt pendeteksi residu antibiotika.

2.2. MANFAAT PENELITIAN.

- Menyediakan bahan untuk pemeriksaan residu antibiotika yang murah dan mudah serta mempunyai sensitivitas yang tinggi.
- Mengurangi ketergantungan terhadap kitt import.
- Dapat menciptakan lapangan kerja.

BAB III

TINJAUAN PUSTAKA

Makanan selain harus mempunyai kandungan gisi yang baik juga harus memenuhi persyaratan keamanan pangan sehingga dapat bermanfaat bagi konsumen serta tidak menimbulkan gangguan kesehatan. Susu bagi masyarakat Indonesia dapat dipandang dari dua sisi yang berbeda yaitu : sebagai bahan makanan yang bernilai gisi tinggi dan sebagai sumber penghasilan untuk memenuhi kebutuhannya bagi masyarakat petani peternak.

Di Amerika guna melindungi konsumen terhadap makanan yang bergisi dan aman untuk dikonsumsi termasuk susu dan produk susu yang bebas dari antibiotika telah dikeluarkan *The Pasteurized Milk Ordinance* (PMO) yang merupakan suatu kesatuan petunjuk, peraturan dan rekomendasi yang mengikat terhadap produksi, penyimpanan dan distribusi susu dan produk lainnya yang harus ditaati oleh peternak, industri persusuan dan penjualan susu (Gangwer, 1994).

Residu antibiotika pada susu dapat terjadi akibat adanya tindakan pencegahan dan pengobatan penyakit pada sapi perah terutama mastitis dan antibiotika yang diberikan untuk maksud-maksud lainnya seperti untuk pemacu pertumbuhan yang waktu henti obatnya tidak mencukupi.

Tindakan peternak yang tetap melakukan pemerahan dan penyeteroran susu dari sapi yang dilakukan pemberian antibiotika tetapi belum melewati waktu henti obat yang disarankan kemungkinan didasari oleh ketidaktahuan peternak terhadap waktu henti obat dan resiko yang mungkin terjadi pada konsumen atau mungkin dengan sengaja karena peternak tidak mau menanggung kerugian akibat pembuangan susu.

Guna meningkatkan keamanan susu dan produk olahan susu dari kemungkinan terjadinya residu antibiotika maka perlu dilakukan tindakan-tindakan pada manajemen peternakan yang meliputi : pengurangan penggunaan obat-obatan pada peternakan, diefektifkannya penggunaan laboratorium untuk diagnosis penyakit sehingga penggunaan antibiotika dapat lebih tepat, lebih intensif dalam mengikuti prosedur waktu henti obat setelah pemberian antibiotika dan dilakukan screening pemeriksaan residu antibiotika terhadap susu sebelum disetor ke industri susu atau sebelum dijual ke masyarakat untuk konsumsi susu segar.

Metode pencegahan terjadinya residu antibiotika yang efektif diantaranya adalah : dilakukannya pengaturan yang baik terhadap lingkungan hewan guna mencegah terjadinya penyebaran penyakit, pengaturan terhadap jenis dan cara makanan diberikan pada ternak, pengontrolan terhadap cara penanganan ternak, pemeliharaan terhadap peralatan yang baik dan dilakukan program vaksinasi secara rutin serta pemberantasan cacing (Gangwer, 1994).

Mastitis baik klinis maupun sub klinis merupakan salah satu penyakit dengan prevalensi yang tinggi pada sapi perah, hasil penelitian yang dilakukan di Poskeswan Rejo Tangan – Tulung Agung menunjukkan bahwa 62,11 % sapi perah menderita mastitis (Samsiyah, 2002). Penelitian yang dilakukan dengan menggunakan reagen California Mastitis Test yang dilakukan di KUD Purwodadi – Pasuruan menunjukkan angka kejadian mastitis sebesar 44,6% (Estoepangesti, 2002).

Mastitis adalah peradangan pada puting yang secara individual dapat dikelompokkan sebagai mastitis klinis dan subklinis. Mastitis merupakan penyakit yang paling merugikan dalam peternakan sapi perah karena berkurangnya produksi susu, penurunan kualitas susu sehingga harga susu per liter juga berkurang, pembuangan susu yang tidak diterima oleh pabrik pengolah susu karena tingginya

jumlah kuman dan adanya residu antibiotika yang digunakan untuk pengobatan, biaya dikeluarkan untuk pembelian obat dan tenaga untuk penanganannya serta adanya kematian serta pengafkiran sapi yang lebih awal (Philpot, 1984).

Penurunan produksi akibat mastitis secara rata-rata sebesar 8%, semakin parah tingkat penyakit yang ditandai dengan peningkatan jumlah leukosit akan semakin besar penurunan produksi yang terjadi (Philpot, 1984., Lucey and Rowlands, 1984).

Bakteria yang paling sering sebagai penyebab mastitis dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok besar berdasar sumber bakteri : patogen yang kontagius yaitu : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* dan *Mycoplasma* sedangkan patogen dari lingkungan sebagai penyebab mastitis yang utama adalah bakteri *Coliform* dan spesies dari *streptococcus* selain *Streptococcus agalactiae*.

Salah satu masalah yang serius pada pengobatan penyakit bakterial adalah makin meluasnya penyebaran bakteri yang resisten terhadap antibiotika. Penyebab resistensi pada bakteri penyebab infeksi diantaranya adalah akibat penggunaan antibiotika yang tidak terkontrol dengan baik (Ruth, 1998).

Lieker (2000), menyatakan bahwa bakteri dapat menjadi resisten terhadap antibiotika tunggal dapat terjadi melalui berkembangnya mekanisme pertahanan spesifik yang menjadikan antibiotika tidak efektif dalam membunuh bakteri. Secara umum resistensi pada bakteri dapat terjadi melalui satu dari tiga mekanisme yang mungkin yaitu

- mencegah antibiotika masuk kedalam mikroba dan berikatan dengan *binding site* dari bakteri.
- Menghasilkan enzim yang dapat menginaktivasi antibiotika
- Merubah internal *binding site* bakteri terhadap antibiotika.

Staphylococcus aureus merupakan agen infeksi yang paling sering menyebabkan terjadinya mastitis khronis sehingga para praktisi sering menggunakan antibiotika beta laktam sebagai obat pilihan untuk penanganan mastitis pada sapi perah (Lieber, 2000).

Staphylococcus aureus menghasilkan toksin yang merusak sel membran dan secara langsung merusak jaringan penghasil susu, menarik sel leukosit ketempat infeksi guna melenyapkan agen infeksi. Permulaan infeksi terjadi kerusakan lapisan saluran dalam puting susu dan glandula sisterna, kemudian bakteri berpindah ke sistem saluran susu dan membentuk kantong-kantong infeksi dalam sel penghasil susu (alveoli). Selanjutnya terjadi pembentukan lapisan pelindung bakteri yang terbentuk dari jaringan ikat dan penerahan, yang berperan terhadap sulitnya antibiotika dalam mencapai bakteri (Jones *et al*, 1998).

Penelitian pada manusia menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* dapat menyebar keseluruh tubuh melalui darah dengan angka kejadian sebesar 15% dari seluruh total kasus bakteremia. *Staphylococcus aureus* penyebab infeksi yang sudah menyebar melalui darah sejumlah besar kasusnya ternyata telah resisten terhadap Oxacillin (Tallent *et al*, 2002).

Infeksi akibat *Staphylococcus aureus* dapat terjadi pada lingkungan biasa maupun pada pasien yang dirawat di rumah sakit serta sudah terjadi resistensi pada penicillin semi sintetik seperti benzylpenicillin maupun methicillin. Problem yang dihadapi adalah terjadinya *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yaitu kondisi dimana bakteri resisten terhadap beberapa antibiotika dan antiseptik, kejadian ini telah meluas ke seluruh dunia (Astagneau dalam Felten *et al*, 2002).

Penebalan dinding sel bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan ciri yang umum pada bakteri ini yang resisten terhadap beberapa macam obat golongan penicillin seperti vancomycin maupun methicillin (Cui *et al*, 2003)

Antibiotika yang termasuk golongan beta laktam diantaranya adalah penicillin, Aminocillin, Cephalosporin, Carbopenem dan Monobactams. Antibiotika ini mempunyai tiga karbon dan satu struktur nitrogen yang dikenal dengan cincin beta laktam (Lieber, 2000).

Secara umum, mekanisme kerja antibiotika beta laktam adalah dengan menghambat sintesis peptidoglikan yang merupakan salah satu penyusun dinding sel bakteri. Penghambatan pada sintesis dinding sel bakteri akan mengaktifkan enzim autolysis sehingga dinding sel bakteri gagal terbentuk. Bakteri tanpa dinding sel akan mati akibat tekanan osmose yang tinggi dari dalam sel. Tanpa dinding sel, membran dalam dan membran luar bakteri tidak mampu menahan tekanan osmose ini.

Bagian ujung asam amino dari rantai samping peptida dari peptidoglikan merupakan asam amino yang khusus dan disebut dengan D-alanin. Antibiotika cycloserine mempunyai konfigurasi yang analog dengan D-alanin dan mengganggu kerja enzim yang mengubah L-alanin menjadi D-alanin dalam sitoplasma sehingga sintesa peptidoglikan gagal terbentuk (Fox, 2002).

Komponen dinding bakteri gram positif terdiri dari peptidoglikan yang multi lapis, protein, asam lipoteichoic, asam teichoic, asam teichuronic dan polysakarida yang merupakan 10-50% dari masa dinding sel dan pada banyak keadaan berhubungan dengan peptidoglikan (Joklik *et al*, 1992).

Peptidoglikan (PG) mempunyai rantai N-acetylmuramic acid (MurNac) dan N-acetylglucosamine (GlcNac) yang menyilang melalui rantai samping penta peptida dan menempel pada MurNac (Hesse *et al*, 2000).

Deteksi residu antibiotika pada susu dapat dilakukan dengan berbagai metode yang masing-masing mempunyai kelebihan dan kekurangan jika digunakan oleh KUD yang ada di Indonesia dan Jawa Timur khususnya.

David and Joseph (2000), menyatakan bahwa metode pengujian dengan dilusi agar merupakan salah satu uji yang dapat digunakan untuk mendeteksi adanya residu antibiotika pada susu serta sekaligus dapat menentukan kadar residu yang ada sehingga dapat diambil tindakan yang tepat terhadap susu dengan mengacu terhadap ADI (*Acceptable Daily Intake*) dan MRL (*Maximum Residu Limit*) yang sesuai dengan peraturan. Kesulitan metode ini untuk diterapkan pada KUD di daerah Jawa Timur akibat diperlukannya fasilitas laboratorium mikrobiologi yang memadai serta tenaga analis berpengalaman.

Beberapa kiti untuk pengujian residu antibiotika yang telah tersedia dipasaran diantaranya: Delvotest-P, SNAP Beta-Lactam, Lac Tec, Charm Farm Test, Penzyme dan Beta s.t.a.r. Keunggulan kiti yang beredar ini umumnya mudah digunakan, tidak memerlukan fasilitas pendukung berupa laboratorium yang kompleks, waktunya cepat dan mudah pengerjaannya tetapi kiti ini masih diimport dari luar negeri dan harganya relatif mahal sehingga tidak efisien jika digunakan sebagai pengujian rutin pada KUD yang menerima susu dari peternak.

Di Jawa Timur susu dikonsumsi sebagai susu segar (pasteurisasi maupun sterilisasi) dan produk susu olahan. Jika KUD sebagai pengepul susu dari peternak tidak melakukan screening terhadap residu antibiotika pada susu dari peternak maka konsumen susu segar dari KUD mempunyai resiko untuk mengkonsumsi susu yang kurang aman atau KUD menerima akibat ditolaknya Susu yang disetorkan ke industri pengolah susu (PT. Nestle).

BAB IV

METODA PENELITIAN



Metode penelitian yang dikerjakan adalah sebagai berikut :

4.1. PENGEMBANGAN KIT UNTUK *BIO ASSAY* RESIDU ANTIBIOTIKA.

- a. Isolasi dan Identifikasi bakteri *Bacillus subtilis* dari tanah (Baron *et al*, 1994).
 - Sampel untuk isolasi *Bacillus subtilis* diperoleh dari beberapa tempat (tanah dari daerah peternakan sapi, peternakan kambing, peternakan ayam, tanah sampah dan humus).
 - Dilakukan pengecatan gram dan pengecatan spora
 - Dilakukan penanaman pada media Nutrien agar
 - Dilakukan uji hemolisis dengan agar darah.
- b. Uji sensitivitas terhadap antibiotika.
 - diambil koloni yang terpisah untuk ditanam pada media Tryptic Soy Broth
 - Pertumbuhan bakteri ditunggu sampai kekeruhannya sesuai dengan 0,5 Mac Farland.
 - Menggunakan swab steril, larutan bakteri diusapkan secara merata pada permukaan agar Muller Hinton.
 - Cakram yang berisi antibiotika ditempelkan di atasnya
 - Cawan petri diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.
 - Terjadinya zona hambatan pertumbuhan (daerah yang bening) diameternya diukur dengan jangka sorong, hasil pengukuran dibandingkan dengan standart untuk menentukan apakah antibiotika yang diuji masih sensitif atau sudah resisten.

4.2. PEMBUATAN RECEPTOR ANTIBIOTIKA BETA LAKTAM DARI *Staphylococcus aureus*.

a. Pengumpulan isolat *Staphylococcus aureus*.

- Sampel sebagai sumber bakteri diambil dari susu yang berasal dari sapi sehat maupun menderita mastitis klinis maupun sub klinis.
- Dilakukan pembiakan pada media Manitol Salt Agar.
- Koloni yang menunjukkan warna kekuningan diduga *Staphylococcus aureus*.
- Koloni yang diduga *Staphylococcus aureus* dilakukan uji pewarnaan gram.
- Dilakukan pengujian haemolysin menggunakan media agar darah, haemolysis ditandai dengan adanya daerah sekitar koloni yang bening dan transparan.
- Pengujian katalase menggunakan Hidrogen Peroksida, dikatakan positif jika terjadi gelembung udara pada larutan H₂O₂ 3% yang digunakan.
- Uji koagulase dilakukan dengan memasukkan bakteri ke dalam plasma kelinci, setelah diinkubasi selama 4 jam, terdapatnya gumpalan yang tidak hilang dengan pengocokan yang pelan menandakan terdapatnya reaksi koagulase yang positif.

b. Screening *S. aureus* yang sensitif terhadap beberapa antibiotika dengan metode cakram difusi.

c. Pemisahan protein dari bakteri *Staphylococcus aureus*.

- Isolat yang telah diidentifikasi sebagai *Staphylococcus aureus* dilakukan pengujian resistensinya terhadap antibiotika untuk

mengetahui tingkat resistensinya terhadap berbagai antibiotika dengan metode cakram difusi.

- Isolat yang terpilih dilakukan perbanyakan pada media Broth Infusion Heart dan dilakukan pengocokan sebesar 100 putaran per menit pada suhu 30°C.
- Pemanenan dilakukan dengan sentrifuse berkecepatan 8.000 RPM pada suhu 4°C selama 10 menit.
- Dilakukan tiga kali pencucian dengan PBS.
- Pemecahan protein dilakukan dengan sonikasi.
- Pemisahan protein secara sentrifugasi (8.000 RPM., 12.000 RPM dan 16.000 RPM)

d. Identifikasi fraksi protein dengan SDS-PAGE.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi, identifikasi dan uji kepekaan terhadap *Bacillus subtilis* yang akan digunakan sebagai bakteri indikator untuk pengujian secara bioassay dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Identifikasi *Bacillus subtilis* dan uji kepekaan terhadap penicillin.

Sampel		Identifikasi <i>B. subtilis</i>				Uji sensitivitas
Asal	Isolat	Gram	Spora	Hemolisis	Ethanol	Penicillin
Tanah Peternakan Sapi (Sp)	Sp1	+	-	-	-	ND
	Sp2	+	+	-	-	ND
	Sp3	+	+	+	+	23,87 mm
	Sp4	+	+	+	+	23,54 mm
	Sp5	-	-	-	-	ND
Tanah Peternakan Kambing (K)	K1	-	-	-	-	ND
	K2	-	-	-	-	ND
	K3	+	+	+	+	23,01 mm
	K4	+	+	-	-	ND
	K5	+	-	-	-	ND
Tanah Peternakan Ayam (P)	P1	+	+	+	+	20,34 mm
	P2	+	+	+	+	23,30 mm
	P3	-	-	-	-	ND
	P4	-	-	-	-	ND
	P5	+	-	-	-	ND
Tanah Sampah (S)	S1	+	+	+	+	24,48 mm
	S2	+	-	-	-	ND
	S3	-	-	-	-	ND
	S4	+	+	+	+	24,14 mm
	S5	+	-	-	-	ND
Tanah Humus (H)	H1	+	-	+	-	ND
	H2	-	-	-	-	ND
	H3	-	-	-	-	ND
	H4	+	+	+	+	20,06 mm
	H5	+	+	+	+	20,05 mm

Catatan :

ND : Tidak dilakukan pengujian

Gram : Pengecatan gram

Spora : Pengecatan spora

Ethanol : Pengujian dengan ethanol 50%

Uji sensitivitas hanya dilakukan pada isolat *B.subtilis*.

Bacillus subtilis berhasil diisolasi dari tanah dari peternakan sapi, peternakan kambing, tanah peternakan ayam, tanah sampah dan tanah humus hal ini dapat terjadi karena genus *Bacillus* secara normal terdapat pada lingkungan (1994), bakteri ini juga bertindak sebagai bakteri perusak dan pembusuk pada buah, sayuran, daging sapi, daging ayam dan makanan laut (Jay, 1986).

Semua isolat yang diidentifikasi sebagai *Bacillus subtilis* sensitive terhadap penicillin, hal ini dapat terjadi akibat sedikit atau tidak adanya kontak bakteri dengan antibiotika sehingga tidak terjadi resistensi pada bakteri yang berhasil diisolasi.

Isolat yang sensitif terhadap penicillin dapat dipertimbangkan sebagai isolat standart (indikator) yang digunakan dalam menguji residu antibiotika pada susu sebab penicillin merupakan antibiotika generasi pertama sehingga isolat yang peka terhadap penicillin sangat mungkin juga peka terhadap antibiotika turunan penicillin yang secara laboratoris mempunyai daya bunuh bakteri yang lebih besar.

Isolat *Staphylococcus aureus* yang akan digunakan sebagai sumber protein guna mengembangkan kitt pendeteksi residu antibiotika pada susu merupakan isolat yang berasal dari susu.

Tabel 2. Hasil isolasi dan identifikasi *Staphylococcus aureus* dari sampel susu

Sampel	Gram	Katalase	MSA	BA	Koagulase	Uji kepekaan						
						P	Met	E	C	AM	TE	
15	C	+	+	+	+	+	I	S	S	S	S	S
	D	+	+	+	+	+	I	S	S	S	S	S
17	A	+	+	+	+	+	I	S	S	S	S	S
	B	+	+	+	+	+	R	S	S	S	S	S
	C	+	+	+	+	+	R	S	S	S	S	S
	E	+	+	+	+	+	I	S	S	S	S	S
18	D	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S
19	B	+	+	+	+	+	R	S	S	I	S	S
	C	+	+	+	+	+	R	S	S	S	I	S

Catatan :

MSA : Manitol Salt Agar
 BA : Blood Agar
 Gram : Pengecatan gram
 P : Penicillin
 Met : Methicillin

E : Erythromycin
C : Chloramphenicol
AM : Amphyccillin
TE : Tetracyclin

Sembilan isolat setelah dilakukan pengujian dengan pengecatan gram, uji katalase, penanaman pada manitol salt agar, penanaman pada blood agar untuk menguji kemampuan hemolysisnya dan uji koagulase, diidentifikasi sebagai *Staphylococcus aureus*. Sembilan isolat ini didapat dari 100 isolat yang pada pengujian secara pengecatan gram menunjukkan gram positif dan uji katalasenya juga menunjukkan hasil positif.

Hasil uji kepekaan terhadap beberapa macam antibiotika menunjukkan bahwa isolat *Staphylococcus aureus* hanya satu sensitif terhadap antibiotika penicillin sedangkan selebihnya telah resisten terhadap obat ini atau sensitif yang bersifat intermediate sedangkan terhadap antibiotika lainnya menunjukkan hasil uji yang sensitif kecuali dua isolat yang masing-masing menunjukkan sifat kepekaan yang intermediate untuk dua macam antibiotika yang berbeda.

Isolat *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari sampel susu telah terjadi resistensi terhadap antibiotika penicillin, kondisi ini dapat terjadi mengingat seringnya penggunaan penicillin untuk pengobatan mastitis klinis maupun sub klinis pada peternakan sapi di Surabaya sedangkan antibiotika yang merupakan turunan penicillin tidak terjadi resistensi hal ini dapat terjadi akibat belum banyaknya penggunaan antibiotika turunan penicillin pada sapi mengingat harganya yang relatif mahal.

Hasil uji resistensi yang sebagian besar menunjukkan adanya isolat yang resisten atau sensitif pada tingkat intermediate (data pada lampiran) dapat digunakan sebagai acuan untuk evaluasi penggunaan penicillin untuk pengobatan mastitis klinis maupun sub klinis pada sapi perah. Penggunaan turunan antibiotika penicillin untuk pengobatan sapi perah harus dilakukan dengan sangat hati-hati dan rasional

mengingat pengalaman yang terjadi pada kasus pengobatan pada manusia dimana dampak yang sekarang terjadi adalah adanya strain *Staphylococcus aureus* yang mengalami *multiple-drug-resistant strain* yaitu strain yang sudah resisten terhadap berbagai obat seperti methicillin, vancomycin.

Hasil pemeriksaan terhadap berat molekul protein dari *S. aureus* menggunakan SDS-PAGE dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 1. Hasil SDS-PAGE dari sentrifugasi yang berbeda kecepatannya.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. KESIMPULAN.

1. Isolat *B.subtilis* didapat dari tanah peternakan sapi, peternakan kambing, peternakan ayam, sampah dan tanah humus.
2. Isolat *Stap. aureus* yang paling peka terhadap antibiotika adalah isolat 18 D
3. Protein yang dari isolat *Stap.aureus* yang akan dikembangkan menjadi kitt dapat dipisahkan secara sederhana dengan sentrifugasi bertingkat.

6.2. SARAN.

1. Perlu dilakukan isolasi *B.subtilis* yang lebih banyak lagi agar didapat isolat yang sangat sensitif.
2. Perlu dilakukan perbandingan berbagai metode persiapan sampel agar dicapai hasil yang paling sensitif dan memungkinkan untuk dikerjakan di KUD.
3. Pemecahan protein perlu dilakukan dengan metode lain mengingat dengan cara sonikasi kurang dapat terpecah secara sempurna serta potensinyakurang baik.

- Baron EJ., LR. Peterson., SM. Finegold. 1994. Bailey and Scott's. Diagnostic Microbiology. 9th Ed. Mosby. Boston.
- Boyer RF. 1993. Modern experimental biochemistry. 2nd Ed. The Benjamin/Cumming Publishing Company. California.
- Bridson EY. 1990. The Oxoid Manual. 6th Ed. Unipath Limited. Hampshire. England.
- Cui L., X.Ma., K.Sato., K.Okuma., FC.Tenover., EM. Mamizuka., CG.Gemmel., MN.Kim., MC.Ploy., N.El Solh., V.Ferrez and K.Hiramatsu. 2003. Cell wall thickening is a common feature on vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. J.of Clinical Microbiology. Vol. 41. No. 1. p.5 – 14.
- David MR and SW. Joseph. 2000. Minimal inhibitory concentration (MIC). University of Maryland. USA.
- Estoepangestie ATS., S.Prawesthirini dan Budiarto. 2002. Peta resistensi antibiotika kuman penyebab mastitis pada sapi perah di wilayah kerja KUD Dadi Jaya Kec. Purwodadi, Kab. Pasuruan, Prop. Jawa Timur. Laporan penelitian hibah proyek Due-like. FKH – Unair. Surabaya.
- Felten A., B.Grandry., PH.Lagrange and I.Casin. 2002. Evaluation of three techniques for detection of low-level methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) : a disk diffusin method with cefoxitin and moxalactam, the vitek 2 system, and the MRSA-screen latex agglutination test. J.of Clin. Microbiology. Vol. 40. No.8. p.2766 – 2771
- Gangwer M., D. Hansen and F.Bodyfelt. 1994. On-farm screening test for beta lactam residues in milk. PNW 455. E-mail : puborder@oregonstate.edu. Oregon State University.
- Greenwood. 1995. Antimicrobial chemotherapy. Antimicrobial agents and chemotherapy. 39 : 303 - 305
- Hogan JS and KL. Smith. 1987. A Practical Look at Environmental Mastitis. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian. Vol.9, No. 10. p.F342.
- Holt JG., NR. Krieg. PHA. Sneath., JT. Staley., ST. Williams. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th Ed. Williams and Wilkins. Baltimore.
- Jay JM. 1986. Modern food microbiology. 3rd Ed. Van nostrad reinhold company. New York.
- Lucey S and GJ. Rowland. 1984. The Association Between Clinical Mastitis and Milk Yield in Dairy Cows. Animal Production. (39): 165-175.

Philipot WN. 1984. Mastitis Management. Bobson Bros Co., Illionis

Samsiyah. 2002. Hubungan antara sistem pemeliharaan dan bentuk anatomis putting sapi perah terhadap kejadian mastitis di wilayah kerja poskeswan Rejotangan, Tulung Agung. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan – Universitas Airlangga. Surabaya.

Talent SM., T.Bischoff., M.Climo., B.Ostrowsky., RP.Wenzel and MB.Edmond. 2002. Vancomycin susceptibility of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates causing nosocomial bloodstream infection. J.of Clin.Microbiology. Vol. 40, No.6. p. 2249 – 2250.



LAMPIRAN

Lampiran 1 : Identifikasi dan uji kepekaan *Staphylococcus aureus*.

Sam- pel susu	Gram stain	Uji katala- se	Media MSA	Media BA	Uji koagu- lase	Uji kepekaan Bakteri						
						P 10 IU	Met 5µg	E 15µg	C 30µg	AM 10µg	TE 30µg	
1	1	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	1	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	4	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	1	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	5	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	1	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	5	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
5	1	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	1	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	4	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
7	1	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
8	1	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	5	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

18	1	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	+	+	+	+	+	29,50 ^S	20,01 ^S	21,38 ^S	26,90 ^S	20,28 ^S	34,08 ^S
	5	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
19	1	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	+	+	+	+	18,60 ^R	21,60 ^S	20,71 ^S	17,12 ^I	14,08 ^S	28,18 ^S
	3	+	+	+	+	+	20,70 ^R	23,71 ^S	20,60 ^S	23,84 ^S	12,70 ^I	19,97 ^S
	4	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
20	1	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	5	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

R : Resisten, I : Intermediate, S : Sensitif

Lampiran 2: Hasil lengkap yang didapatkan dari beberapa pengujian

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

26.	B/02/02	-	-	-	-	-	-
27.	B/02/03	+	+	+	+	+	+
28.	B/02/04	-	-	-	-	-	-
29.	B/03/01	+	+	+	+	+	+
30.	B/03/02	+	+	+	-	-	-
31.	B/03/03	+	+	+	+	-	-
32.	B/03/04	+	+	+	+	-	-
33.	B/04/01	+	+	+	+	-	-
34.	B/04/02	+	+	+	+	+	+
35.	B/04/03	+	+	+	+	+	+
36.	B/04/04	+	+	+	+	+	+
37.	B/05/01	+	+	+	+	+	+
38.	B/05/02	+	+	+	+	-	-
39.	B/05/03	+	+	-	-	-	-
40.	B/05/04	+	+	+	+	+	+
41.	B/06/01	+	+	+	+	+	+
42.	B/06/02	+	+	+	+	+	+
43.	B/06/03	+	+	+	+	-	-
44.	B/06/04	+	+	+	+	-	-
45.	B/07/01	+	+	+	+	+	+
46.	B/07/02	+	+	+	+	+	+
47.	B/07/03	+	+	+	+	+	+
48.	B/07/04	+	+	+	+	+	+
49.	B/08/01	-	-	-	-	-	-
50.	B/08/02	+	+	+	+	-	-
51.	B/08/03	+	+	+	+	+	+
52.	B/08/04	+	+	+	+	+	+
53.	B/09/01	-	-	-	-	-	-
54.	B/09/02	-	-	-	-	-	-
55.	B/09/03	-	-	-	-	-	-
56.	B/09/04	-	-	-	-	-	-
57.	B/10/01	-	-	-	-	-	-
58.	B/10/02	-	-	-	-	-	-
59.	C/01/01	+	+	+	+	-	-
60.	C/02/01	+	+	+	+	-	-
61.	C/03/01	+	+	+	+	-	-
62.	C/04/01	+	+	+	+	-	-
63.	C/05/01	+	+	+	+	-	-
64.	C/06/01	+	+	+	+	-	-
65.	C/07/01	+	+	+	+	-	-
66.	C/08/01	+	+	+	+	-	-
67.	C/09/01	+	+	+	+	-	-
68.	C/10/01	+	+	+	+	-	-
69.	C/11/01	+	+	+	+	-	-
70.	C/12/01	+	+	+	+	-	-
71.	C/13/01	+	+	+	+	-	-
72.	C/14/01	+	+	+	+	-	-
73.	C/15/01	+	+	+	+	+	+
74.	C/16/01	+	+	+	+	-	-
75.	C/17/01	+	+	+	+	+	+

76.	C/18/01	+	+	+	+	+	+
77.	C/19/01	+	+	+	+	+	+
78.	C/20/01	+	+	+	+	-	-
79.	D/05/01	+	+	-	-	-	-
80.	D/05/02	+	+	-	-	-	-
81.	D/07/01	+	+	-	-	-	-
82.	D/07/02	+	+	-	-	-	-
83.	D/08/01	+	+	-	-	-	-
84.	D/08/02	+	+	-	-	-	-
85.	D/09/01	+	+	-	-	-	-
86.	D/09/02	+	+	-	-	-	-
87.	D/10/01	+	+	+	+	-	-
88.	D/10/02	+	+	-	-	-	-
89.	D/10/04	+	+	+	+	-	-
90.	D/11/02	+	+	-	-	-	-
91.	D/12/02	+	+	+	+	-	-
92.	D/21/02	+	+	+	+	-	-
93.	D/21/03	+	+	+	+	-	-
94.	D/22/02	+	+	-	-	-	-
95.	D/24/02	+	+	+	+	-	-
96.	D/24/03	+	+	+	+	-	-
97.	D/26/01	+	+	+	+	-	-
98.	D/26/02	+	+	+	+	-	-
99.	D/27/02	+	+	-	-	-	-
100.	D/27/04	+	+	-	-	-	-
101.	D/28/01	+	+	+	+	-	-
102.	D/28/02	+	+	+	+	-	-
103.	D/28/03	+	+	+	+	-	-
104.	D/28/04	+	+	+	+	-	-
105.	D/29/01	+	+	+	+	-	-
106.	D/29/02	+	+	-	-	-	-
107.	D/29/03	+	+	+	+	-	-
108.	D/29/04	+	+	-	-	-	-
	Σ (+)	90	89	71	63	21	21 (19,44%)

Lampiran 3: Hasil lengkap dari uji kerentanan terhadap antibiotika

No.	Nomor Sampel Susu Sapi	Penicillin G 10 IU	Methicillin 5 µg	Ampicillin 10 µg
1.	A/01/01	25.4 ^I	25.3 ^S	26.32 ^S
2.	A/01/02	28.21 ^I	22.02 ^S	34.7 ^S
3.	A/09/01	20.28 ^R	22.08 ^S	21.12 ^S

4.	B/02/03	21.65 ^I	21.1 ^S	20.58 ^S
5.	B/03/01	15.12 ^R	15.12 ^S	15.12 ^R
6.	B/04/02	15.22 ^R	18.00 ^S	16.3 ^R
7.	B/04/04	20.65 ^R	18.22 ^S	20.88 ^S
8.	B/05/01	18.18 ^R	20.96 ^S	17.04 ^R
9.	B/05/04	16.34 ^R	22.16 ^S	25.86 ^S
10.	B/06/01	19.16 ^R	20.78 ^S	14.15 ^R
11.	B/06/02	18.16 ^R	20.96 ^S	16.7 ^R
12.	B/07/01	19.2 ^R	24.98 ^S	20.98 ^S
13.	B/07/02	18.17 ^R	17.42 ^S	22.3 ^S
14.	B/07/03	17.92 ^R	18.14 ^S	17.84 ^R
15.	B/07/04	18.48 ^R	30.46 ^S	16.15 ^R
16.	B/08/03	37.46 ^S	17.64 ^S	18.1 ^R
17.	B/08/04	16.34 ^R	16.52 ^S	18.3 ^R
18.	C/15/01	21.71 ^I	22.66 ^S	20.58 ^S
19.	C/17/01	19.60 ^R	20.84 ^S	17.87 ^R
20.	C/18/01	29.50 ^I	20.01 ^S	20.28 ^S
21.	C/19/01	20.70 ^R	23.71 ^S	12.70 ^R

**SCREENING *Bacillus subtilis* YANG SENSITIF TERHADAP
ANTIBIOTIKA DAN POTENSINYA SEBAGAI BAHAN UJI
BIOLOGIS TERHADAP ANTIBIOTIKA**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Oleh:

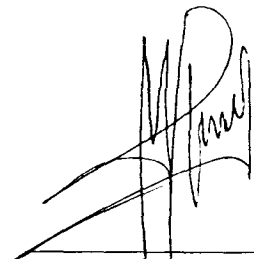
Nani Limarni
NIM. 069912702

Menyetujui

Komisi Pembimbing

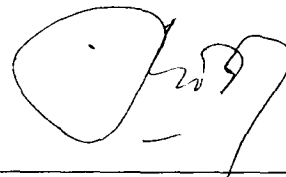
29 Desember 2003

Pembimbing Pertama



Iwan Sahrial Hamid, M.Si, Drh

Pembimbing Kedua



Tatik Hernawati, M.Kes, Drh

SCREENING *Bacillus subtilis* YANG SENSITIF TERHADAP ANTIBIOTIKA DAN POTENSINYA SEBAGAI BAHAN UJI BIOLOGIS TERHADAP ANTIBIOTIKA

Nani Limarni

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mencari bakteri *Bacillus subtilis* yang paling sensitive terhadap antibiotika Penicillin, yang berasal dari tanah yang berbeda, sehingganya nantinya akan dapat digunakan sebagai bahan dasar pada pengembangan kitt pendeteksi residu antibiotika.

Bacillus subtilis diisolasikan dari tanah peternakan sapi, tanah peternakan kambing, tanah peternakan ayam, tanah humus dan tanah pembuangan sampah. Hasil uji kepekaan terhadap antibiotika Penicillin didapatkan beberapa yang isolat *Bacillus subtilis* yang peka, sehingga dapat digunakan sebagai bakteri indicator dalam pemeriksaan residu antibiotika secara *bio assay*.

**PROFIL FRAKSI PROTEIN *Staphylococcus aureus* DARI ISOLAT SUSU
YANG SENSITIF TERHADAP BEBERAPA ANTIBIOTIKA**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Oleh:

RIANTI MARIANI
NIM. 069912641

Menyetujui

Komisi Pembimbing

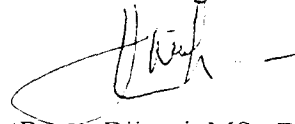
29 Desember 2003

Pembimbing Pertama



(Dadik Raharjo, Mkes., Drh)

Pembimbing Kedua



(Retno Bijanti, MS., Drh)

PROFIL FRAKSI PROTEIN *Staphylococcus aureus* DARI ISOLAT SUSU YANG SENSITIF TERHADAP BEBERAPA ANTIBIOTIKA

Rianti Mariani

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan gambaran fraksi protein dari *Staphylococcus aureus* yang dinyatakan dengan berat molekul. Fraksi protein tersebut nantinya dapat digunakan untuk penelitian lanjutan biologi molekuler sebagai bahan dasar pengembangan kiti pendeteksi residu antibiotika maupun pengembangan pembuatan vaksin sub unit *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus diisolasi dari susu segar sapi perah yang didapatkan dari peternakan di Surabaya. Kemudian dilakukan uji kepekaan terhadap beberapa antibiotika untuk mendapatkan bakteri yang sensitif. Pemanenan bakteri dilakukan dengan *shaker* dan dilakukan sonikasi untuk ekstraksi protein. Pemurnian protein dengan SDS PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate Polycrilamide Gels Electroforesis*).



**PREVALENSI *Staphylococcus aureus* YANG BERASAL DARI SUSU SAPI
SEHAT DAN KEPEKAANNYA TERHADAP ANTIBIOTIKA**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Oleh:

Sri Rezeki
NIM. 069912686

Menyetujui

Komisi Pembimbing

29 Desember 2003

Pembimbing Pertama



Tjuk Imam Restiadi, M.Si., Drh

Pembimbing Kedua



B. Tehupuring, M.Si., Drh

PREVALENSI *Staphylococcus aureus* YANG BERASAL DARI SUSU SAPI SEHAT DAN KEPEKAANNYA TERHADAP ANTIBIOTIKA

Sri Rezeki

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat penyebaran *Staphylococcus aureus* pada susu sapi perah sehat serta kepekaannya terhadap beberapa antibiotika.

Staphylococcus aureus didapat dari susu segar sapi perah yang berasal dari peternakan sapi perah Surabaya setelah dilakukan beberapa pengujian. Isolat murni kemudian diuji kepekaannya terhadap antibiotika yang memiliki cincin β -lactam.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa 19,44 persen sampel positif mengandung *Staphylococcus aureus*, 71,43 persen diantaranya telah resisten terhadap penicillin G, 52,38 persen resisten terhadap ampicillin, namun tidak ditemukan bakteri yang resisten terhadap methicillin.

