

## Isolasi dan Identifikasi Bakteri Gram Positif *Staphylococcus aureus* dan *Micrococcus* pada Peternakan Sapi yang Terindikasi Mastitis

### *Isolation and Identification of Bacteria Gram-Positive Staphylococcus aureus and Micrococcus on Cattle Farms Indicated Mastitis*

Siti Rani Ayuti<sup>1,3,\*</sup>, Widya Nur Hidayati<sup>2</sup>, Masda Admi<sup>4</sup>, Rosmaidar<sup>5</sup>, Zainuddin<sup>6</sup>, Hennivanda<sup>5</sup>, dan Ali Makmur<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Biokimia, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Indonesia

<sup>3</sup>Pusat Riset Sapi Aceh dan Ternak Lokal, Banda Aceh, Indonesia

<sup>4</sup>Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Indonesia

<sup>5</sup>Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Indonesia

<sup>6</sup>Laboratorium Klinik, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Indonesia

<sup>7</sup>PSDKU Gayo Lues Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala, Indonesia

\*Corresponding author: [sitirani\\_ayuti@usk.ac.id](mailto:sitirani_ayuti@usk.ac.id)

(Diterima: 01 November 2022; Disetujui: 28 Januari 2023)

### ABSTRAK

Mastitis menjadi salah satu penyakit yang menyebabkan penurunan produksi ternak dan sulit disembuhkan dengan menggunakan antibiotik dan dapat menimbulkan residu, serta memicu resistensi antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bakteri Gram positif yang dapat menjadi penyebab mastitis pada sapi. Penelitian menggunakan sampel yang diambil dari peternakan rakyat dengan cara swab ambung ternak. Isolasi bakteri dilakukan dengan cara penanaman pada media Mannitol Salt Agar (MSA) dan melakukan Identifikasi dengan pewarnaan Gram, Uji Katalase dan Uji biokimia (maltosa dan laktosa). Data dianalisis menggunakan analisis deskriptif yaitu jenis-jenis bakteri sebagai agen penyebab mastitis. Hasil penelitian yang didapatkan sebagai bakteri penyebab mastitis spesies *Staphylococcus aureus* dan *Micrococcus* sp. yang tergolong pada bakteri Gram positif. Dapat disimpulkan bahwa pada sapi terindikasi mastitis terdapat bakteri Gram positif, hal tersebut secara morfologi diidentifikasi yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Micrococcus*.

Kata kunci: sapi, mastitis, isolasi, identifikasi, bakteri gram positif

### ABSTRACT

*Mastitis is one of the diseases that causes a decrease in livestock production and is difficult to cure using antibiotics, and can cause residues and trigger antibiotic resistance. The purpose of this study is to determine gram-positive bacteria that can be the cause of mastitis in cows. The study used samples collected from community farms using udder swabs. Bacterial isolation is carried out through implantation on Mannitol Salt Agar (MSA) media and Identification by Gram staining, Catalase Test, and Mannitol sugar test. The data analysis used is descriptive, namely the type of bacteria as the causative agent of mastitis. The study results obtained bacteria that cause mastitis species *Staphylococcus aureus* and *Micrococcus* sp, which belongs to Gram-positive bacteria. Gram-positive bacteria are morphologically identified in cows that indicated mastitis, namely *Staphylococcus aureus* and *Micrococcus*.*

Keywords: cow, mastitis, isolation, identification, gram-positive bacteria

## PENDAHULUAN

Perkembangan usaha peternakan sapi tidak dapat terhindar dari munculnya beberapa penyakit, salah satu penyakit yang sering terjadi pada usaha peternakan sapi adalah penyakit mastitis (Soeharman *et al.*, 2016). Mastitis adalah penyakit radang ambing, yang sangat berbahaya bagi ternak sapi perah. Amrieti *et al.* (2020) menyatakan bahwa persentase mastitis subklinis adalah 97-98% dan 2-3% mudah dikenali secara klinis karena memiliki gejala yang terlihat pada kondisi fisik ambing. Peternak terkadang tidak memperhatikan hal ini karena sapi tampak dalam keadaan sehat, namun produksi susu akan berkurang jika sapi yang terinfeksi mastitis (Suwito *et al.*, 2014; Nisa *et al.*, 2019). Kejadian mastitis di Indonesia menjadi penyebab penurunan produksi susu hingga mencapai 25% dari total produksi susu (Nisa *et al.*, 2019). Pada saat proses pemerahan secara manual sangat rentan terjadinya penularan dari satu puting ke puting lainnya (Tamur, 2020). Banyak faktor yang dapat mempengaruhi ternak terindikasi mastitis baik dari lingkungan maupun manajemen pengelolaan seperti pemberian pakan, kebersihan kandang, jumlah sapi dalam kandang, ventilasi, dan cara pemerahan. Penggunaan antibiotik dalam pengobatan mastitis membawa dampak residu pada hasil ternak bahkan dapat menyebabkan resistensi antibiotik (Lutviandhitarani *et al.*, 2015). Resistensi bakteri terhadap antibiotik dapat menyebabkan bakteri kebal pada antibiotik yang umum digunakan (Ngajow *et al.*, 2013; Pratiwi, 2017).

Deteksi mastitis sangat diperlukan dilakukan untuk pencegahan penurunan produksi juga kerugian bagi peternak sapi. Berbagai jenis mikroba patogen masuk ke kelenjar ambing melalui puting ambing. Bakteri patogen penyebab mastitis yang paling umum adalah *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. (Surjowardojo *et al.*, 2015; Astriyai *et al.*, (2017); Ramadhani *et al.*, 2020). Namun, kebanyakan kasus disebabkan

bakteri patogen dari spesies *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Coliforms* dan *Actinomyces pyogenes* (Du Preeze, 2000; Quinn *et al.*, 2004).

*Staphylococcus aureus* atau disebut juga dengan *S. aureus* merupakan salah satu bakteri yang dominan menjadi penyebab mastitis. Menurut Shearer dan Harris (2003), pengendalian mastitis sangat penting untuk diketahui karena prevalensi yang sangat tinggi, jika ternak sudah terinfeksi mastitis sulit untuk dideteksi dan menjadi reservoir mikroorganisme yang akan menginfeksi hewan lainnya. *S. aureus* dan *Micrococcus* sebagai penyebab mastitis juga berpotensi menimbulkan masalah kesehatan masyarakat (Larasati *et al.*, 2020). *S. aureus* dan *Micrococcus* juga memiliki sifat yang resisten terhadap antibiotik juga menghasilkan faktor virulensi termasuk exotoxin dan protein pada membran sel (Sudarmi *et al.*, 2017).

Penetapan status positif mastitis pada ternak ruminansis dapat dilakukan dengan pemeriksaan CMT didapatkan hasil positif 2 (++) atau hasil positif 3 (+++), kemudian status mastitis dapat dipastikan dengan cara pemeriksaan di dalam laboratorium dengan cara melakukan pemeriksaan Pewarnaan gram, uji katalase, uji gula manitol, uji koagulase, uji Voges-Proskauer (Persson dan Olofsson, 2011). Bakteri gram positif yang merupakan penyebab mastitis contohnya *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysagalactiae* dan *Streptococcus uberis*. (Zadoks *et al.*, 2011). Identifikasi mastitis gram positif dapat dilakukan dengan menggunakan uji katalase, koagulase, simon sitrat, uji biokimia (maltosa, laktosa). Berdasarkan latar belakang diatas perlu dilakukan penelitian untuk melihat jenis bakteri Gram positif pada peternakan sapi yang terindikasi mastitis.

## METODE

### Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan pada

Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala pada bulan April 2022. Sampel penelitian berasal dari peternakan pemelihara sapi perah. Penentuan mastitis menggunakan metode *California Mastitis Test* (CMT). Bakteri diisolasi dengan kultivasi dalam media *mannitol agar* (MSA) dan diidentifikasi dengan pewarnaan Gram, uji katalase dan uji gula manitol atau biokimia. Sampel diambil langsung dari sapi dengan gejala mastitis, sampel dikumpulkan dan disimpan pada tabung yang steril, ditutup rapat dan disimpan dalam *preezer* dengan *ice pack* bertujuan untuk menjaga kestabilan suhu 5-10°C.

### Isolasi dan Identifikasi Sampel

Isolasi dilakukan berdasarkan metode *Bergey's Manual Determination* untuk menumbuhkan bakteri yang pada media NB. Sampel diambil dengan menggunakan ose dan digoreskan pada media *Blood Agar Plate* (BPA) selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian dilakukan penanaman bakteri dengan menggunakan *Nutrient agar* (NA) miring diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C sebagai isolat bakteri.

### Pewarnaan Gram Bakteri

Pewarnaan Gram membantu mendeteksi sifat Gram dan morfologi bakteri. Kemudian preparasi dilakukan pada kaca preparat, di fiksasi dengan bunsen, kemudian ditambahkan setetes larutan kristal violet dan didiamkan selama 1-2 menit. Pewarna yang tersisa dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir. Seluruh preparat ditetesi dengan larutan Lugol dan didiamkan selama 30 detik. Buang larutan Lugol dan bilas dengan air yang mengalir. Preparat diputihkan dengan alkohol 96% sampai semua warna memudar kemudian segera dicuci dengan air yang mengalir. Tutupi dengan tingtur safranin, biarkan selama 2 menit, bilas dengan air mengalir dan biarkan mengering, amati di bawah mikroskop dengan perbesaran objektif 100 x memakai emersi.

### Uji Katalase

Uji katalase diperlukan untuk

membedakan jenis genus dari bakteri tersebut, dengan cara teteskan cairan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ke slide dan lepaskan loop inokulasi dari MSA, tempatkan dan campur. Katalase positif ditunjukkan dengan adanya gelembung gas (O<sub>2</sub>) yang dihasilkan oleh genus *Staphylococcus* (Toelle and Lenda, 2014).

### Uji Biokimia

Uji biokimia dilakukan berupa uji maltosa dan laktosa, setelah sampel diberikan label kemudian dilakukan inokulasi dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Uji gula dinyatakan positif apabila ada perubahan warna menjadi kekuningan sedangkan negatif bila warna tetap merah atau tidak ada perubahan warna (Lay, 1994).

### Analisis Data

Data penelitian dianalisis berdasarkan deskriptif dari hasil dan data yang ditemukan pada penelitian. Analisis data berupa jenis genus bakteri yang menjadi penyebab mastitis pada sapi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Mastitis adalah salah satu penyakit menular yang terjadi terutama pada usaha peternakan (Quinn *et al.*, 2002). Mikroba penyebab mastitis yang masuk ke kelenjar ambing melalui puting dan menyebabkan peradangan pada ambing (Purwatiningsih *et al.*, 2014). Isolasi dilakukan dengan menggunakan media *Nutrient Broth* (NB) dan *Blood Plate Agar* (BPA). Hasil penelitian menunjukkan sampel yang diinokulasi dalam media *Nutrient Broth* (NB) terlihat adanya pertumbuhan bakteri jika ada perubahan warna pada NB dari bening menjadi keruh (Gambar 1).

Pertumbuhan bakteri pada media NB disebabkan adanya sumber nutrisi yang baik untuk bakteri (Gambar 1). Menurut Wahyuningsih dan Zulaikha (2018) bahwa kandungan NB terdiri dari sumber karbon berupa *beefekstrak* dan pepton sebagai sumber



Gambar 1. Pertumbuhan bakteri pada media *Nutrient Broth* (NB) mengalami kekeruhan

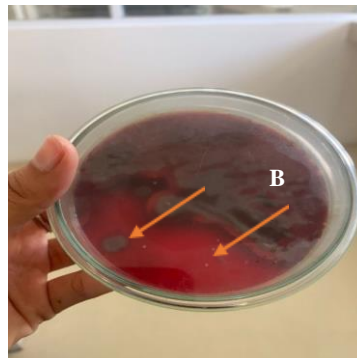
nitrogen yang berperan sebagai kebutuhan nutrisi bakteri. Apabila dalam kondisi lingkungan dan nutrisi makanan yang cocok, maka bakteri dapat terus berkembang dan memperbanyak diri dengan cara membelah diri (Sariadji *et al.*, 2013).

Suspensi bakteri yang tumbuh dari media NB dipindahkan ke *Blood Plate Agar* (BPA) untuk mendapatkan koloni terpisah serta untuk melihat kemampuan bakteri dalam menghemolisis sel darah merah (Nuraeni dan Sebayang, 2018; Wahyuningsih dan Zulaika, 2018). Pada penelitian yang dilakukan Isnani *et al.* (2017) tentang isolasi bakteri penyebab mastitis ditemukan bakteri *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus sp.*, *E. coli*, *Neisseria sp.*, *Corynebacterium sp.*, dan *Listeria sp.* dan penelitian Milk (2014) ditemukan *Corynebacterium sp.*, *Yersinia sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Bacillus sp.*, dan *Neisseria sp.*

Hasil pengamatan makroskopis morfologi koloni bakteri Gram Positif media BPA menunjukkan bahwa langkah identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram. Untuk memperjelas morfologi dan reaksi Gram pada bakteri secara mikroskopis

dapat menggunakan metode pewarnaan Gram. Hasil penelitian setelah dilakukan pewarnaan Gram menunjukkan koloni yang diduga *S. aureus* yang terlihat berbentuk kokus dan bergerombol, selain itu juga diduga terdeteksi *Staphylococcus epidermidis* karena bentuk tunggal, ganda dan berantai. Gram positif terlihat warna ungu pada semua koloni hal ini disebabkan reaksi pada pewarnaan Gram. Menumbuhkan koloni dengan Teknik Streak-T yang menggunakan media MSA harus diinkubasi dengan suhu 37 °C selama 24 jam (Rahayu *et al.*, 2014). Dapat dilihat dari hasil penelitian bahwa perubahan warna dari merah menjadi kuning yang disebabkan oleh bakteri *S. aureus* yang tumbuh pada media MSA, hal ini terjadi karena fermentasi mannitol menjadi asam (Ramadani *et al.*, 2020). Asam organik yang dihasilkan oleh bakteri yang mengubah pH media agar yang menyebabkan perubahan warna pada koloni menjadi warna kuning (Rahmi *et al.*, 2015).

Bakteri Gram positif pada Gambar 2 dan Tabel 1 terlihat pertumbuhan koloni bakteri berwarna keabuan dan putih, berbentuk bulat dengan pinggir koloni yang rata. Pada koloni A menunjukkan beta hemolisis dan



Gambar 2. Pertumbuhan bakteri pada media *Blood Plate Agar* (BPA) (A=Abu,  $\beta$  hemolisis; B=Putih,  $\alpha$  hemolisis)

Tabel 1. Hasil pengamatan makroskopis morfologi koloni bakteri pada media BPA

No	Koloni	Ukuran	Bentuk	Pigmentasi	Permukaan	Tepi	Elevasi	Tipe Hemolisa
1	A	1 mm	Bulat	Abu-abu	Halus	Rata	Cembung	$\beta$
2	B	1 mm	Bulat	Putih	Halus	Rata	Cembung	$\alpha$

pada koloni B menunjukkan alfa hemolisis. Adanya zona jernih sebagian pada sekitar pertumbuhan koloni yang menandakan bahwa bakteri dapat menghemolisis darah. Sesuai dengan penelitian Sanatang dan Lio (2016) mengatakan pertumbuhan bakteri pada sebagian media ini ditandai dengan adanya zona kehijauan akibat sel darah merah mengalami lisis dengan mereduksi haemoglobin menjadi methemoglobin disekitar koloni yang disebut alfa hemolisis. Adanya zona jernih sempurna disekitar koloni akibat bakteri mampu melisiskan sel darah merah dan menggunakan hemoglobin secara sempurna disebut beta hemolisis dan apabila tidak terdapat perubahan warna media pada sekeliling koloni bakteri disebut gamma hemolisis. Adanya zona bening disekeliling koloni menunjukkan isolat bersifat patogen (Sodiq *et al.*, 2019).

Pigmentasi yang terlihat pada media BPA menunjukkan sebagai tingkat virulensi bakteri. Khususan dan Kusmanto (2019) menyatakan sifat pathogen bakteri dapat dilihat dari pigmen yang dihasilkan, pigmen kuning lebih pathogen jika dibandingkan dengan pigmen putih. Ada dua pigmentasi yang terlihat yaitu abu-abu dan putih diduga

dihasilkan oleh bakteri Gram positif. Purnomo *et al.* (2006) menyatakan warna pigmen yang terbentuk pada bakteri Gram positif seperti pigmen putih, kuning dan oranye. Menurut Dewi (2013) bahwa bakteri Gram positif seperti *S. aureus* yang membentuk koloni dari warna abu-abu sampai kuning emas tua dapat menyebabkan mastitis kronis akut pada sapi (Rosmania dan Yanti, 2020). Selain itu *S. aureus* juga dapat menyebabkan keracunan bagi yang mengkonsumsi produk yang didalamnya telah tumbuh bakteri tersebut. Salah satu agen yang dapat menyebabkan keracunan pada hewan maupun manusia dan sering terdeteksi pada bahan pangan asal hewan yaitu *Staphylococcal enterotoxin* (Omoe *et al.*, 2002; Purnomo, 2006).

Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri gram positif yang berbentuk kokus jika dilihat di bawah mikroskop. *S. aureus* adalah non-motil, non-sporulasi, anaerob fakultatif, katalase-positif dan oksidase-negatif. *S. aureus* bisa tumbuh dengan suhu 6,5-46 °C dan pH 4,2-9,3 (Nurwantoro, 2001; Paryati, 2002). Dalam 24 jam bakteri dapat tumbuh mencapai 4 mm, berbentuk bulat, halus, terlihat dan mengkilat. *S. aureus* membentuk koloni berwarna abu-abu atau kuning

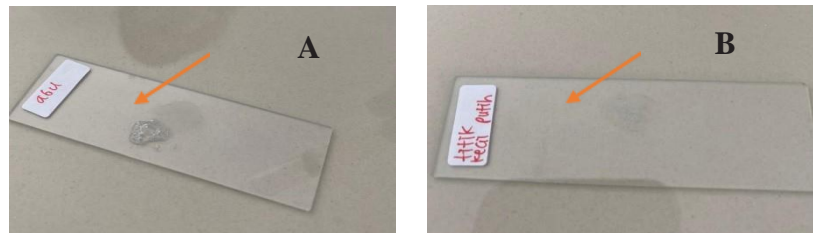


keemasan (Toelle *et al.*, 2014). Pigmen kuning keemasan muncul saat ditumbuhkan selama 18-24 jam pada suhu 37°C, jika ditumbuhkan pada suhu kamar maka akan terlihat pembentukan pigmen yang terbaik. Tidak ada pigmen yang diproduksi dalam biakan atau kaldu anaerobik. *Staphylococcus aureus* mudah tumbuh di banyak peternakan bakteri. *S. aureus* dan terkadang spesies bakteri lainnya menghasilkan derajat hemolisis yang bervariasi (Jawetz *et al.*, 2001). *S. aureus* pada Manitol Agar (MSA) akan terdeteksi koloni berwarna kuning yang dikelilingi oleh zona kuning keemasan, karena memiliki kemampuan dalam proses fermentasi manitol. Karena pada bakteri tidak dapat memfermentasi manitol, akan muncul zona. (Novitasari *et al.*, 2019). Polisakarida dan protein pada *Staphylococcus* mengandung yang bersifat antigenik merupakan substansi yang sangat penting di dalam struktur dinding sel (Ngajow *et al.*, 2013). Asam kuat atau lisozim dapat merusak dinding sel karena terdiri dari polimer polisakarida yang tergabung menjadi eksoskeleton yang kaku pada dinding sel (Pisestyan *et al.*, 2017). Pada saat aktivitas endotoksin yang mengaktifkan komplemen pada sel. Terjadinya proses patogenesis infeksi jika terbentuknya interleukin-1 (pirogen endogen) dan antibodi saat penarik kimia leukosit polimorfonuklear (Trisunuwati dan Setyowati, 2017).

Hasil isolasi dengan media MSA diduga *Staphylococcus aureus* (Gambar 1). Dari hasil penelitian memperlihatkan bahwa *S. aureus* mampu memfermentasi manitol, hal ini dibuktikan ketika *S. aureus* dikembangkan pada agar manitol yang warnanya berubah dari merah menjadi kuning (Arif, 2017). Tidak ada bakteri yang tumbuh pada satu sampel yang tersisa, kemungkinan karena sampel tidak mengandung *Staphylococcus sp.* Menurut Wahyuningsih dan Zulaika (2018) media selektif seperti MSA dan merupakan media diferensial untuk *Staphylococcus sp.* Media ini memiliki kandungan garam natrium klorida hingga 7,5%, yang dapat dijadikan media selektif bagi pertumbuhan bakteri Gram

positif. Hal ini juga disebabkan salinitas yang mencapai 7,5% sangat baik untuk pertumbuhan *Staphylococcus*, tetapi tidak untuk bakteri jenis lainnya. Hasil isolasi bakteri gram positif fermentasi manitol menunjukkan adanya *cocciform* yang menunjukkan ada perubahan warna (Gambar 1), mempertahankan warna crystal violet yang menyebabkan tidak adanya perubahan warna ungu pada media oleh bakteri. Kandungan peptidoglikan pada dinding sel dapat mempengaruhi perbedaan sifat Gram pada bakteri, pada bakteri Gram negatif peptidoglikan lebih tebal jika dibandingkan dengan bakteri Gram positif (Dewi, 2013). Suhendar dan Faturrahman (2019) menambahkan selain peptidoglikan pada dinding sel, genus *Staphylococcus* juga dapat dipengaruhi oleh enzim katalase.

Menurut Nissan *et al.* (2019), tingginya prevalensi penyakit mastitis yang menyerang sapi di Indonesia hingga mencapai 85%. Dari hasil penelitian terjadinya mastitis kemungkinan besar disebabkan oleh ternak yang kurang memadai seperti manajemen pemerahan dan kebersihan kandang yang kurang baik. Menurut Surjowardojo (2014) yang faktor seperti kebersihan kandang yang buruk dan higienitas saat pemerahan berperan penting dalam timbulnya mastitis. Nurhayati dan Martindah (2015) menambahkan bahwa kejadian mastitis disebabkan pengelolaan kotoran ternak yang kurang baik. Mastitis juga dapat disebabkan oleh pemerah, karena hampir semua pemerah tidak menggunakan larutan antiseptik setelah pemerahan selesai dilakukan. Menurut Pisestyan *et al.* (2017) menjaga kebersihan selama pemerahan salah satu pencegahan mastitis. Mahardhika *et al.* (2012) menyatakan bahwa untuk mencegah terjadinya mastitis dan mengurangi trinfeksinya ternak lainnya, maka perlu menjaga kebersihan sapi pada saat proses pemerahan. Selain itu harus diperhatikan lingkungan kandang salah satunya tempat pembuangan feses. Salah satu penyebab kontaminasi pada susu dan juga merupakan sumber bakteri terjadinya mastitis adalah feses ternak (Usmiati dan Abubakar,



Gambar 3. Hasil uji katalase positif terbentuk gelembung (A: Koloni abu-abu dan B: Koloni putih)

2009).

### Uji Katalase

Bentuk bakteri kokus bergerombol dan kokus tidak bergerombol maka dilakukan uji katalase. Toelle dan Lenda (2014) menyatakan uji katalase dapat digunakan untuk membedakan spesies bakteri kokus seperti *Staphylococcus* sp. dan *Streptococcus* sp.

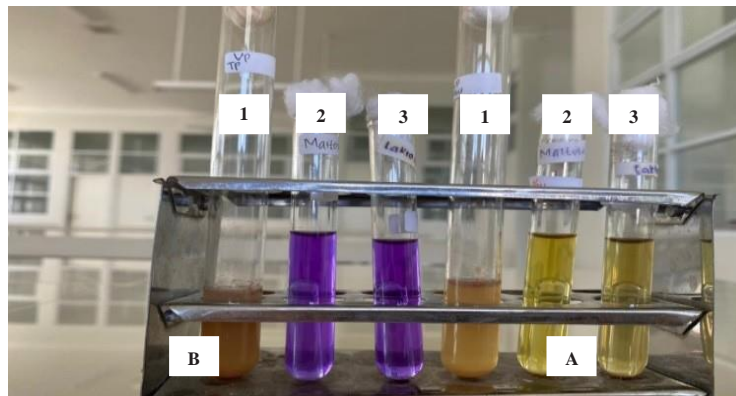
Kedua bentuk koloni menunjukkan hasil positif karena terbentuknya gelembung karena kemampuan bakteri menghasilkan enzim katalase (Gambar 3). Sesuai dengan pernyataan Dewi (2013) hasil positif dari uji katalase yaitu terbentuk gelembung-gelembung udara yang disebabkan oleh produksi enzim katalase sehingga mampu menghidrolisis hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi air ( $H_2O$ ) dan gelembung gas ( $O_2$ ). Menurut Yusra *et al.* (2014) bahwa bakteri yang berbentuk kokus dan bersifat katalase positif diduga termasuk kedalam genus *Staphylococcus* atau *Micrococcus*.

Salah satu metode yang dapat digunakan dalam mendeteksi dari genus *Staphylococcus* dan *Streptococcus* sp. dengan uji katalase. Pada uji katalase terjadinya penguraian hidrogen peroksida menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  dalam proses katalisis yang dibantu oleh enzim (Toelle dan Lenda, 2014). Hidrogen peroksida beracun bagi sel karena menonaktifkan enzim seluler. Bakteri yang tumbuh melakukan proses penguraian yang membentuk hidrogen peroksida selama proses metabolisme pada lingkungan aerobik (Milk, 2014). Katalase yang bersifat positif menandakan dengan adanya gelembung gas  $O_2$  (Toelle dan Lenda, 2014). Hasil yang diperoleh pada penelitian ini diduga

*Staphylococcus aureus* yang menunjukkan katalase positif. Dewi (2013) menyatakan bahwa semua *Staphylococcus* sp. dibuktikan dengan hasil uji katalase positif. Selain itu dapat juga dilakukan uji koagulasi yang berguna untuk pemeriksaan *Staphylococcus* sp., ditambahkan Poeloengan *et al.* (2006) uji ini membedakan koloni *Staphylococcus aureus* yang dicurigai dengan *Staphylococcus epidermidis*, dimana terbentuknya endapan granular pada alat gelas menunjukkan hasil yang positif.

Hasil uji koagulasi, pada sampel yang diduga *S. aureus* ditemukan positif koagulasi, hal tersebut mendakan adanya gumpalan granular atau endapan yang terlihat pada uji koagulasi disebabkan oleh enzim yang mengubah fibrinogen dalam plasma sitrat menjadi fibrin (Soemarno, 2000). Proses ini menunjukkan tingkat infeksi *S. aureus* mencapai 91,6% dan tingkat infeksi *Staphylococcus epidermidis* hingga 25%, oleh karena itu dapat dipastikan bahwa sapi terindikan terinfeksi mastitis. Setelah melakukan beberapa tahapan uji dan analisis dari hasil penelitian bakteri yang ditemukan yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Miccococus* yang merupakan penyebab terjadinya mastitis. Menurut Supar dan Aryat (2008) jenis bakteri seperti *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis* dapat menjadi penyebab terjadinya mastitis subklinis.

Hasil uji katalase (Gambar 3) memperlihatkanbahwaisolatbakterisemuanya terdeteksi positif, hal tersebut menandakan bahwa isolat tersebut adalah *Staphylococcus* (Purnomo *et al.*, 2006). *Staphylococcus* sp. Patogen dapat memfermentasi gula



Gambar 4. Hasil uji biokimia. (1) uji *Voges Proskauer* (VP); (2) fermentasi maltosa; dan (3) fermentasi laktosa. (A=Abu-abu; B=Putih)

Tabel 2. Uji biokimia

No	Koloni	Voges Proskauer (VP)	Maltosa	Laktosa
1	Abu-abu	+	+	+
2	Putih	+	-	-

yang terkandung dalam larutan manitol, meningkatkan keasaman dan mengubah larutan menjadi kuning (Singh dan Prakash 2008). Terjadinya penggumpalan plasma pada uji koagulase dapat disebabkan oleh bakteri *S. aureus* (Dewi, 2014). Koagulase plasma terjadi karena mengandung protein mirip enzim yang dapat menyebabkan pembekuan bila ditambahkan ke dalam oksalat atau sitrat. Pembentukan esterase yang disebabkan reaksi serum pada proses koagulase pada aktivitas koagulase untuk mengaktifkan protrombin menjadi trombin. Trombin membentuk fibrin, yang mempengaruhi koagulase plasma (Boerlin, 2003). Pada proses patogenesis *S. Aureus* hal yang dapat mempengaruhi hal tersebut adalah kapasitas aglutinasi plasma (Ote *et al.*, 2011).

#### Uji Biokimia

Uji biokimia dilakukan untuk mengetahui jenis spesies bakteri melalui sifat fisiologi bakteri yang berkaitan dengan aktivitas metabolisme sel dalam menghasilkan ataupun menggunakan energi untuk sintesis komponen sel (Hardiansyah *et al.*, 2020).

Sampel A dan B terjadi perubahan

media dari keruh menjadi lembayung berarti kedua bakteri mempunyai kemampuan menghasilkan substansi non asam atau produk akhir yang netral (Gambar 4 dan Tabel 2). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Dewi (2013) yang mengatakan hasil positif pada uji VP akan merubah warna kuning menjadi lembayung ataupun terdapat cincin merah. Hasil uji gula-gula terhadap koloni A terjadi perubahan warna dari ungu ke kuning, hal ini menandakan hasil positif sesuai dengan penelitian Dewi (2013) pada uji maltosa dan laktosa bersifat positif apabila terjadi perubahan warna ungu menjadi kuning, perubahan warna menandakan bahwa bakteri membentuk asam dari fermentasi maltosa dan laktosa. Sedangkan pada koloni B didapatkan hasil negatif karena tidak terjadi perubahan warna pada uji maltosa dan laktosa. Sesuai dengan penelitian Khairunnisa *et al.* (2018) apabila bakteri tersebut tidak mampu memfermentasi karbohidrat ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna atau tetap ungu dengan hasil negatif seperti yang terjadi pada koloni B.

Infeksi mastitis dapat terjadi ketika



otot puting terbuka dan bakteri *S. aureus* masuk melalui larutan yang terkontaminasi. Bahkan  $10^2$  Colony Forming Units (CFU) *S. aureus* dapat menyebabkan mastitis (Moroni *et al.*, 2005), hal tersebut dapat menimbulkan reaksi imun pada kambing yang awalnya ditandai dengan penumpukan sel darah putih yang menghilangkan mikroorganisme yang menempel pada sel ambing ternak. Jika reaksi tersebut tidak terjadi, mikroorganisme akan berkembang biak dan kambing dapat menunjukkan reaksi lain seperti demam (Pradika *et al.*, 2019). Munculnya mastitis merupakan ancaman besar bagi kelangsungan hidup anak kambing, karena toksin yang dihasilkan oleh *S. aureus* selain melemahkan produksi susu juga dapat menyebabkan kematian pada induk. Mastitis disebabkan bakteri *S. aureus* tidak hanya dapat menyebabkan kematian pada pedet dan induk, tetapi dapat menimbulkan penurunan pendapatan yang diakibatkan berkurangnya produktivitas susu (Trisunuwati dan Setyowati, 2017). Infeksi kelenjar ambing pada kambing yang disebabkan oleh bakteri *S. aureus* biasanya bersifat subklinis. Selain itu keberadaan *S. aureus* pada produk makanan seperti susu dapat menyebabkan keracunan dan terjadinya toxic shock syndrome (Milk, 2014). Keracunan dapat terjadi pada manusia dan hewan yang sering terjadi karena *Staphylococcal enterotoxin* (Purnomo *et al.*, 2006; Ngajow *et al.*, 2013). Tindakan preventif untuk mengatasi terjadinya mastitis harus dilakukan mulai dari memperbaiki manajemen pemerahan. Penghangatan puting susu dengan air hangat, kain lap sebelum dan sesudah pelaksanaan pemerahan, pemberian antibiotik saat laktasi kering merupakan salah satu pilihan untuk mencegah mastitis klinis dan subklinis. Pemeriksaan secara teratur dengan CMT diperlukan untuk memantau mastitis subklinis. Mencuci ambing dengan air bersih dan hangat sebelum diperah juga dapat membantu pencegahan mastitis (Purnomo *et al.*, 2006; Yusra *et al.*, 2014).

### KESIMPULAN

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pada sapi terindikasi mastitis terdapat bakteri Gram positif yang secara morfologi diidentifikasi yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Micrococcus*.

### DAFTAR PUSTAKA

- Amri, I. A., Qosimah, D., Rickyawan, N. dan Nurmaningdyah, A.A. 2020. Komunikasi informasi edukasi mastitis pada peternak usaha rakyat. Buletin Udayana Mengabdi, 19(2): 155-160.
- Astriyai, W., Surjowardojo, P. dan Susilorini, T.E. 2017. Daya hambat ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* L.) dengan pelarut ethanol dan aquades terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus* penyebab mastitis pada sapi perah. Jurnal Ternak Tropika, 18(2): 8-13.
- Boerlin, P., Kuhnert, P., Hussy, D., Schaellibaum, M. 2003. Methods for Identification of *Staphylococcus aureus* Isolates In Cases of Bovine Mastitis. J. Clin. Microbiol 41 (2): 767-771.
- Freney, J., Kioos, W.E., Hajek and Webster, J.A. 1999. Recommended Minimal Standar for Description Of New *Staphylococcal* species, Int. J. Syst Bacterio 49 (1): 489-502.
- Isnan, M. H., Gelgel, K. T., Suarjana, I. G., dan Timur, D. P. K. B. J. 2017. Isolasi dan Identifikasi Bakteri dari Susu Kambing Peranakan Etawa Terindikasi Mastitis Klinis di Beberapa Kecamatan dan Kabupaten Banyuwangi. Buletin Veteriner Udayana, 9(1):73-80.
- Khairunnisa, M., Helmi, T.Z., Darmawi., Dewi, M. dan Hamzah, A. 2018. Isolasi dan identifikasi *Staphylococcus aureus* pada ambing kambing peranakan etawa (PE). JIMVET, 2(4): 538-545.
- Larasati, S. A., Windria, S. dan Cahyadi, A. I. 2020. Kajian pustaka: faktor-faktor virulensi *Staphylococcus aureus* yang berperan penting dalam kejadian

- mastitis pada sapi perah. Indonesia Medicus Veterinus, 9(6): 984-999.
- Luthviandhitarani, G., Harjanti, D. W. dan Wahyono, F. 2015. *Green antibiotic* daun sirih (*Piper betle L.*) sebagai pengganti antibiotik komersial untuk penanganan mastitis. Agripet, 15(1): 28-32.
- Mahardhika, O., Sudjatmogo, Suprayogi, T. H. 2012. Tampilan total bakteri dan pH pada susu kambing perah akibat dipping desinfektan yang berbeda [Total bacteria and pH of goat milk with various udder dipping methods]. Anim. Agric. J. 1(1):819-828.
- Milk, A. O. S. M. I. 2014. Prevalence and antimicrobial resistance assessment of subclinical mastitis in milk samples from selected dairy farms. American Journal of Animal and Veterinary Sciences, 9(1), 65-70.
- Moroni, P., Pison, G., Ruffo, and Boetter, P.J. 2005. Risk factors for intramammary infections and relationship with somatic cell counts in Italian dairy goats. Prev. Vet. Med. 69 (1): 163- 173.
- Ngajow, M., Abidjulu, J. dan Kamu, V. S. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. Jurnal Mipa Unsrat Online, 2(2): 128-132.
- Nisa, H. C., Purnomo, B. S., Damayanti, T. L., Hariadi, M., Sidik, R. dan Harijani, N. 2019. Analisis faktor yang mempengaruhi kejadian mastitis subklinis dan klinis pada sapi perah. Ovozoa, 8(1): 66-70.
- Nisa, H. C., Purnomo, B. S., Damayanti, T. L., Hariadi, M., Sidik, R. dan Harijani, N. 2019. Analisis faktor yang mempengaruhi kejadian mastitis subklinis dan klinis pada sapi perah. Ovozoa, 8(1): 66-70.
- Novitasari, T. M., Rohmi. dan Inayati, N. 2019. Potensi ikan teri jengki (*Stolephorus indicus*) sebagai bahan media alternatif untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Jurnal Analis Medika Bio Sains, 6(1): 1-15.
- Nuraeni, M. dan Sebayang, R. 2018. Pengaruh pemberian air kelapa (*Cocos nucifer. L*) pada media agar darah terhadap pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Jurnal Kesehatan, 9(2): 346-351.
- Nurhayati, I. S. dan Martindah, E. 2015. Pengendalian mastitis subklinis melalui pemberian antibiotik saat periode kering pada sapi perah. WARTAZOA 25(2): 65-74.
- Omoe, K., Ishikawa, M, Shimoda, Y., Hu, D.L., Ueda, and Shinagawa, K. 2002. Detection of seg, seh, and sei genes in isolates and determination of the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolates harbouring seg, seh, and sei genes. J. Clin. Microbiol. 40 (1): 857-862.
- Ote, I., Taminiau, B., Duprez, I.N., Dizier, I., and Mail, J.G. 2011. Genotypic characterization by Polymerase Chain Reaction of *Staphylococcus aureus* isolates associated with bovine mastitis. Vet. Microbiol., 153 (1): 285–292.
- Pasaribu, A., Firmansyah. dan Idris, N. 2015. Analisis faktor-faktor yang mempengaruhi produksi susu sapi perah di kabupaten karo provinsi sumatera utara. Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan, 18(1): 28-35.
- Persson Y. and I. Olofsson. 2011. Direct and indirect measurement of somatic cell count as indicator of intramammary infection in dairy goats. Acta Vet. Scand 53 (15): 1-5.
- Pisestyani, H., Sudarnika, E., Ramadhanita, R., Ilyas, A. Z., Wicaksono, A., Basri, C., ... dan Sudarwanto, M. B. 2017. Perlakuan celup puting setelah pemerahan terhadap keberadaan bakteri patogen, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*,

- dan *E. coli* pada sapi perah penderita mastitis subklinis di peternakan Kunak Bogor. *Jurnal Sain Veteriner*, 35(1), 63-70.
- Pradika, A.Y., Chusniati, S., Purnama, M.T.E., Effendi, M.H., Yudhana, A., Wibawati, P.A. 2019. Uji Total *Escherichia coli* pada Susu Sapi Segar di Koperasi Peternak Sapi Perah (KPSP) Karyo Ngremboko Kecamatan Purwoharjo Kabupaten Banyuwangi. *J. Med. Vet* 2(1): 1-6.
- Pratiwi, R. H. 2017. Mekanisme pertahanan bakteri patogen terhadap antibiotik. *Jurnal Pro-Life*, 4(3): 418-429.
- Purnomo, A., Hartatik, Khusnan, Salasia, S.I.O., dan Soegiyono. 2006. Isolasi dan Karakterisasi *Staphylococcus aureus* Asal Susu Kambing Peranakan Ettawa. *Media Kedokteran Hewan* 22 (3): 145.
- Purwatiningsih, T.I., Suranindiyah, Y.Y. dan Widodo. 2014. Aktivitas senyawa fenol dalam buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) sebagai antibakteri alami untuk penghambatan bakteri penyebab mastitis. *Buletin Peternakan*, 38(1): 59-64.
- Rahayu, N.P.N., Kawuri, R. dan Suriani, N.L. 2014. Uji keberadaan *Staphylococcus aureus* pada sosis tradisional (urutan) yang beredar di pasar tradisional di Denpasar, Bali. *Jurnal Simbiosis*, 2(1): 147-157.
- Rahmi, Y., Darmawi, Abrar M., Jamin F., Fakhrrazi, Fahrimal Y. 2015, Identifikasi Bakteri *Staphylococcus Aureus* Pada Preputium dan Vagina Kuda (*Equus caballus*), *Medika Veterinaria* 9 (2): 156-157.
- Ramadhani, A., Saadah, S. dan Sogandi. 2020. Efek antibakteri ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 7(2): 203-214.
- Rosmania. dan Yanti, F. 2020. Perhitungan jumlah bakteri di laboratorium mikrobiologi menggunakan metode spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2): 76-86.
- Sanatang dan Lio, T.M.P. 2021. Skrining bakteri pada kulit pisang dengan menggunakan media Nutrient agar dan Blood agar. *Biom: Jurnal Biologi Makassar*, 6(1): 31-36.
- Sariadji, K., Sunarno., Nelly, P., Wati, M., Khairiri., Sundari, N. S. dan Amalia, N. 2013. Evaluasi medium pengayaan *Vibrio cholera* untuk diagnosis kolera menggunakan immunochromatographic strip test. *Bul. Penelit. Kesehat*, 41(1): 11-17.
- Singh, P. and Prakash, A. 2008. Isolation of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* from milk products sold under market conditions at Agra Region. *Acta Agric. Slovenica*, 21(1): 83-84.
- Sodiq, A. H., Setiawati, M. R., Santosa, D. A. dan Widayat, D. 2019. Potensi mikroba asal mikroorganisme lokal dalam meningkatkan perkecambahan benih paprika. *Jur. Agroekotek*, 11(2): 214-226.
- Soeharman, A.N., Sulistyati, M. dan Taspirin, D.S. 2016. Hubungan antara pengetahuan dan sikap dengan tindakan peternak sapi perah dalam upaya pencegahan penyakit mastitis. *Students e-Journals* 5(4): 1-3.
- Suhendar, U. dan Faturrahman, M. 2019. Aktivitas antibakteri ekstrak metanol cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Fitofarmaka*, 9(1): 26-34.
- Surjowardojo, P. 2011. Tingkat kejadian mastitis dengan whiteside test dan produksi susu sapi perah friesien holstein. *J. Ternak Tropika* 12(1): 46-55.

- Suwito, W., Wahyuni, A. E. T. H., Nugroho, W. S. dan Sumiarto, B. 2014. Isolasi dan identifikasi bakteri mastitis klinis pada kambing peranakan ettawah. *Jurnal Sain Veteriner*, 31(1): 49-54.
- Tamur, Y. K. 2020. Profil mikrobiologis dan deteksi mastitis dengan california mastitis test di peternakan sapi perah novisiat claretian Bentulu. *Journal of Animal Science*, 5(4): 70-72.
- Toelle, N.N. dan Lenda, V. 2014, Identifikasi dan Karakteristik *Staphylococcal sp.* dan *Streptococcus sp.* dari Infeksi Ovarium Pada Ayam Petelur Komersial, *Jurnal Ilmu Ternak*, 13(1): 34-41.
- Toelle, N.N. dan Lenda, V. 2014. Identifikasi dan Karakteristik *Staphylococcus Sp.* dan *Streptococcus Sp.* dari Infeksi Ovarium Pada Ayam Petelur Komersial. *J. Ilmu Ternak*, 1(7): 32-37.
- Trisunuwati, P. dan Setyowati, E. 2017. Potensi perasan daun binahong (*Anredera cordifolia*) sebagai antibakterial pada kultur media bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* penyebab mastitis klinis penyebab mastitis sapi perah. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pendidikan*, 27(1): 18-27.
- Wahyuningsih, N. dan Zulaika. 2018. Perbandingan pertumbuhan bakteri selulolitik pada media *Nutrient Broth* dan *Carboxy Methyl Cellulose*. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 7(2): 36-38.
- Yusra, Y., Azima, F., Novelina, N., dan Periadnadi, P. 2014. Isolasi dan identifikasi mikroflora indigenous dalam budu. *Agritech*, 34(3):316-321.
- Zadoks, R.N., Middleton, J.R., McDougall, S., Katholm, J., and Schukken, Y.H. 2011. Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 16: 357–372.