

Identifikasi *Staphylococcus sp.* dan Resistensi Antibiotik di Kecamatan Tukur, Pasuruan

Identification of *Staphylococcus sp.* and Antibiotic Resistance in Tukur District, Pasuruan

Indah Purnamasari^{1*}, Suwarno², Wiwiek Tyasningsih²

¹Magister Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, ²Departemen Mikrobiologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Kampus C Mulyorejo, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60115.

*Corresponding author: indahpurnamasari@fkh.unair.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi *Staphylococcus sp.* dan resistensi antibiotik di Kecamatan Tukur, Pasuruan. Sebanyak 273 sampel susu sapi dievaluasi dan diidentifikasi cemaran *Staphylococcus sp.* Selanjutnya, uji resistensi antibiotik dilakukan sesuai standard CLSI. Penelitian ini menunjukkan 41 isolat *Staphylococcus sp.* dari 97 ekor sapi positif CMT. Hasil penelitian menemukan tujuh isolat *Staphylococcus sp.* resisten terhadap antibiotik yang terdiri dari satu isolat *multidrug-resistant*, yaitu *S. saprophyticus* yang resisten terhadap penisilin, eritromisin dan klindamisin, serta enam isolat resisten antibiotik yang terdiri dari dua isolat *S. aureus*, satu isolat *S. haemolyticus* dan tiga isolat *S. simulans*. Isolat *Staphylococcus sp.* menunjukkan resistensi terhadap penisilin, eritromisin, klindamisin, dan tetrasiklin. Sedangkan Antibiotik gentamisin, ciprofloksasin, cefoxitin, dan cotrimoxazole tidak mengalami resistensi, sehingga antibiotik tersebut masih aman digunakan. Angka kejadian resistensi bakteri *Staphylococcus sp.* terhadap antibiotik dengan rincian resistensi terhadap penisilin 7,3%, resistensi terhadap tetrasiklin 7,3%, resistensi terhadap klindamisin 4,8% dan resistensi terhadap eritromisin 4,8%.

Kata kunci: antibiotik, *multidrug-resistant*, *Staphylococcus sp.*

Abstract

This study aimed to identify *Staphylococcus sp.* and antibiotic resistance in Tukur District, Pasuruan. A total of 273 samples of cow's milk were evaluated and identified as *Staphylococcus sp.* Furthermore, the antibiotic resistance test was carried out according to CLSI standards. This study showed 41 isolates of *Staphylococcus sp.* of 97 positive CMT. The results of the study reported seven isolates of *Staphylococcus sp.* resistant to antibiotics consisted of one multidrug-resistant isolate, i.e. *S. saprophyticus* which was resistant to penicillin, erythromycin and clindamycin, and six antibiotic resistant isolates consisted of two *S. aureus* isolates, one *S. haemolyticus* isolate and three isolates *S. simulans*. *Staphylococcus sp.* isolates showed resistance to penicillin, erythromycin, clindamycin, and tetracycline. While the antibiotics gentamicin, ciprofloxacin, cefoxitin, and cotrimoxazole did not reported resistance, so these antibiotics were applicable. The incidence of bacterial resistance *Staphylococcus sp.* to antibiotics with details of resistance to penicillin 7,3%, resistance to tetracycline 7,3%, resistance to clindamycin 4,8% and resistance to erythromycin 4,8%.

Keywords: antibiotic, *multidrug-resistant*, *Staphylococcus sp.*

Received: 29 July 2022

Revised: 6 November 2022

Accepted: 4 February 2023

PENDAHULUAN

Staphylococcus sp. yang merupakan *multidrug-resistant organism* (MDRO) penyebab mastitis subklinis, akan sangat berbahaya jika ditemukan dalam suatu peternakan, karena dapat menjadi reservoir atau sumber penular bagi ternak yang lain. Peningkatan strain MDRO dapat

menimbulkan masalah serius bagi peternak dan dokter hewan dalam pemilihan terapi antimikroba yang tepat. Namun jika MDRO dapat dideteksi lebih awal dari kasus mastitis subklinis, pemilihan terapi antimikroba yang efektif biasanya dapat ditemukan (Moroni *et al.*, 2005; Basak *et al.*, 2016). Pada mastitis subklinis tidak terlihat perubahan fisik air susu maupun ambung



sehingga tidak terdeteksi oleh peternak dan susu sapi masih disetorkan ke Koperasi Peternakan Sapi Perah (KPSP) (Reni dan Widya, 2018). Hal ini sangat berbahaya jika air susu yang mengandung bakteri *Staphylococcus sp. multidrug-resistant* yang berasal dari sapi penderita mastitis subklinis dikonsumsi oleh masyarakat, karena dapat menjadi *foodborne disease* yang disebabkan oleh bakteri yang dibawa oleh makanan asal ternak yang menyebabkan keracunan makanan serta menjadi penyakit resistensi antibiotik pada manusia yang dapat berisiko menyebabkan kematian (Basak *et al.*, 2016; Sekarini *et al.*, 2020).

Menurut WHO (2016), saat ini resistensi antibiotik merupakan masalah global dan Indonesia menduduki peringkat ke 8 dari 27 negara dengan predikat *multidrug-resistant* tertinggi di dunia (Estiningsih *et al.*, 2016). *Multidrug-resistant* adalah suatu keadaan di mana bakteri resisten terhadap lebih dari 3 golongan antibiotik yang berbeda (Magiorakos *et al.*, 2012; Basak *et al.*, 2016). MDRO dapat disebabkan karena pemakaian antibiotik yang tidak tepat dosis, tidak tepat diagnostik, dan tidak tepat bakteri penyebab penyakit (Estiningsih *et al.*, 2016). Bakteri *multidrug-resistant* terhadap antibiotik sudah banyak ditemukan pada kasus mastitis sapi di beberapa negara antara lain adalah *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang merupakan bakteri coagulase positive *Staphylococcus* (CoPS) dapat terjadi pada bakteri coagulase negative *Staphylococcus* (CoNS). Bakteri CoNS Resistant juga merupakan bakteri patogen penyebab mastitis penting yang dapat mengakibatkan kerusakan jaringan sekretori susu pada kelenjar susu oleh peningkatan stroma jaringan ikat sehingga ternak harus diafkir lebih cepat (Moroni *et al.*, 2005; Frey *et al.*, 2013).

Kasus mastitis kontagiosa yaitu penularannya dari sapi ke sapi, 40% disebabkan bakteri patogen *Staphylococcus sp.* yang disebut sebagai *Livestock Associated-Methicillin-resistant S. aureus* (LA-MRSA) dan telah dilaporkan penularan ke manusia (Aswin *et al.*, 2020). Isolat LA-MRSA yang resisten terhadap antibiotik β -laktam juga resisten terhadap

antibiotik yang lain sehingga disebut sebagai bakteri *multidrug-resistant* (Tsakris *et al.*, 2013; Aswin *et al.*, 2020). Telah dilaporkan oleh Wahyuni *et al.*, (2014) bahwa 50% MRSA yang resisten terhadap penicillin-G (84,3%) dan ampisilin (93,75%), berasal dari Jawa Timur dan Jawa Tengah serta persentase MRSA 93,75% dapat ditemukan pada susu mastitis subklinis.

Jawa Timur mempunyai populasi sapi perah terbesar sekitar 252.680 ekor atau 49,66% dari total populasi sapi perah Indonesia. Provinsi penghasil air susu sapi terbesar juga berasal dari Jawa Timur, pada tahun 2013 sampai 2017 rata-rata produksi air susu sapi perah di Jawa Timur sebesar 461.730 ton atau sebesar 54,25% dari produksi nasional (Kementerian Pertanian, 2017). Koperasi Peternakan Sapi Perah (KPSP) Setia Kawan Nongkojajar, Kecamatan Tukur, Kabupaten Pasuruan merupakan koperasi terbesar di Provinsi Jawa Timur, dengan hasil utamanya adalah susu segar (Hariri, 2018). Produksi susu segar koperasi Setia Kawan Nongkojajar pada tahun 2019 meningkat menjadi 108 ton liter per hari dengan populasi sapi perah sebanyak 22.500 ekor (Gutomo, 2019). KPSP Setia Kawan berada di lereng sebelah barat Pegunungan Tengger di ketinggian 400-2.000 mdpl, dengan wilayah meliputi 11 desa yang terbagi menjadi 3 wilayah, diantaranya wilayah perbukitan (ketinggian 500-1000 mdpl), yaitu Desa Wonosari, Gendro, Pungging, Tukur, Kalipucung, Sumberpitu dan Ngembal. Wilayah pegunungan (ketinggian 1000-2000 mdpl) yaitu Desa Blarang, Kayukebek dan Andonosari. Wilayah dataran tinggi (ketinggian >2000 mdpl) yaitu Desa Tlogosari (Hariri, 2018).

Mastitis pada sapi yang disebabkan bakteri *Staphylococcus sp.* resisten memiliki beberapa gen resisten tergantung dari jenis antibiotik resistennya, antara lain adalah gen penyandi *MecA* (antibiotik methicilin), *MecC* (antibiotik cefoxitin), gen *blaZ* (antibiotik penisilin-G) ketiganya termasuk golongan antibiotik penisilin, gen *aacA-D* (antibiotik golongan aminoglikosida yaitu gentamisin), gen *ermA* (antibiotik golongan makrolida yaitu erythromycin), gen *ermB* (antibiotik golongan linkosamid yaitu klindamisin), dan gen *ermC* (streptogramin B),

sedangkan resistensi terhadap golongan antibiotik tetrasiklin ditandai gen *tet(K)* dan *tet(M)* (Frey *et al.*, 2013; Kot *et al.*, 2020). Identifikasi bakteri *multidrug-resistant* tergantung dari jenis bakteri dan jenis antibiotiknya yang resisten, oleh karena itu untuk mengetahui profil bakteri *multidrug-resistant* dapat digunakan uji Biogram untuk pemetaan jenis bakteri hasil kultur dan uji biokimia yang dievaluasi berdasarkan *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan uji resistensi fenotip dengan metode konvensional menggunakan difusi cakram antibiotika Kirby-Bauer, sehingga untuk melihat resisten atau sensitif terhadap antibiotik tertentu dapat dilihat dari ukuran diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram antibiotiknya (Basak *et al.*, 2016; Kozerski *et al.*, 2014).

Adanya peningkatan resistensi bakteri patogen pada susu sapi terhadap antibiotik maka perlu dilakukan deteksi dini mastitis subklinis dengan menggunakan *California Mastitis Test* (CMT) (Reni dan Widya, 2018). Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi resistensi bakteri *Staphylococcus sp.* penyebab mastitis subklinis terhadap beberapa antibiotik di Kecamatan Tutur, Pasuruan.

METODE PENELITIAN

Sampel

Penelitian merupakan penelitian eksploratif laboratorik. Teknik pengambilan sampel dengan cara *purposive sampling* dan cara menentukan besaran sampel berdasarkan Sugiono, 2006 diperoleh penghitungan 273 jumlah sampel susu yang diambil. Sampel susu diuji dilapangan menggunakan uji CMT. Sekitar 10 ml sampel susu positif mastitis subklinis diambil langsung dari ambing dan ditempatkan dalam tabung reaksi steril. Sampel susu dimasukkan ke dalam coolbox (Hayati *et al.*, 2019).

Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri *Staphylococcus sp.* pada media *Manitol Salt Agar* (MSA) dilakukan dengan mengambil 1 ose inokulum dari susu sapi perah penderita mastitis subklinis yang telah

dibuktikan dengan positif CMT, kemudian diinokulasi pada media MSA dan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. (Hayati *et al.*, 2019).

Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan dengan pengamatan mikroskopis menggunakan pewarnaan Gram untuk membedakan bakteri Gram positif dan Gram negatif serta uji biokimia untuk memperjelas identifikasi bakterinya (Ratih *et al.*, 2017).

Preparat ulas dibuat pada obyek glass dari biakan yang diduga bakteri *Staphylococcus sp.* pada media MSA, difiksasi di atas api bunsen. Preparat ditetesi dengan larutan kristal ungu, didiamkan selama 60 detik dan dicuci dengan air mengalir. Preparat ditetesi dengan larutan iodine dan didiamkan selama 2 menit, dicuci dengan air mengalir. Preparat ditetesi dengan alkohol 96% sampai warna ungu hilang. Preparat ditetesi safranin dan didiamkan selama 30 detik, dicuci dengan air mengalir dan ditaruh diatas tissue agar tidak ada sisa air. Preparat diamati dengan mikroskop, hasil uji gram positif jika sel berwarna ungu dan negatif jika sel berwarna merah (Ernawati, 2012). *Staphylococcus sp.* merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk kokkus, bergerombol dan berwarna ungu pada pewarnaan Gram. Warna ungu disebabkan karena bakteri mempertahankan warna pertama, yaitu Kristal violet. Bakteri Gram positif memiliki peptidoglikan lebih tebal jika dibanding dengan Gram negatif (Hayati *et al.*, 2019).

Uji Biokimia

Uji biokimia merupakan cara dalam melakukan identifikasi untuk menentukan genus atau spesies bakteri tertentu dengan melihat sifat-sifat fisiologis koloni bakteri hasil isolasi. Uji biokimia dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mereaksikan senyawa kimia (Nasution, 2020).

Uji katalase dapat digunakan untuk membedakan genus *Staphylococcus sp.* dan *Streptococcus sp.* Teteskan cairan H₂O₂ 3% di atas object glass dan ambil satu ose inokulum dari MSA dan diletakkan kemudian campurkan. Katalase positif ditunjukkan adanya gelembung

gas (O₂) yang diproduksi oleh genus *Staphylococcus* (Toelle dan Lenda, 2014). Terjadinya gelembung udara menunjukkan uji katalase positif yaitu isolate bakteri uji mereduksi H₂O₂ (Wahyuni et al., 2014).

Uji koagulase merupakan uji yang digunakan untuk mengetahui ada tidaknya enzim koagulase yang dihasilkan oleh *Staphylococcus sp.* Uji ini dilakukan dengan mengambil isolat bakteri menggunakan ose, kemudian masukkan ke dalam 1 ml *Nutrient Broth* dan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Masukkan 1 ml plasma kelinci ke dalam *Nutrient Broth* yang sudah berisi bakteri menggunakan spuit. Dan inkubasi selama 4 jam pertama untuk melihat hasilnya, bila masih belum menunjukkan koagulase positif inkubasi dilanjutkan sampai 24 jam. Reaksi positif pada uji koagulase ditunjukkan dengan adanya gumpalan seperti gel dalam tabung, dan reaksi negatif apabila tidak terdapat gumpalan menyerupai gel pada tabung (Laila, 2019).

Uji *Voges Proskauer* (VP) berguna mengetahui reaksi kondensasi diantara diasetil. Uji VP dikerjakan dengan memupuk koloni *Staphylococcus sp.* pada media VP dalam tabung dan diinkubasi selama 40 jam pada suhu 37°C. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan warna media yang menjadi keruh, kemudian ditambahkan ke dalam tabung 5 tetes KOH 40% dalam akuades steril dan 12 tetes alpha-naphthol 5% dalam ethanol, yang bertindak sebagai katalis. Larutan yang telah ditambah reagen kemudian dikocok perlahan dan tunggu sampai 30 menit. Hasil positif terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah dan hasil negatif ditandai dengan tidak adanya perubahan warna merah pada tabung (Sarudji et al., 2017).

Uji *Ornithin Decarboxylase* menggunakan media Motility Indol Ornithin (MIO) yang berfungsi untuk 3 pengujian yaitu *motility*, *ornithin decarboxylase* dan indol yang bertujuan untuk mengkarboksilase ornitin menjadi bentuk amine. Hasil uji yang diperoleh (+) warna media terjadi perubahan dari kuning menjadi keunguan (Mustahal, 2012).

Uji urease digunakan untuk melihat bakteri yang mampu menghasilkan enzim urease. Beberapa mikroorganisme mampu menghasilkan

enzim urease yang menguraikan mikromolekul urea ((NH₂)₂ CO) menjadi karbondioksida (CO₂) dan amonia (NH₃). Amonia yang dihasilkan akan meningkatkan pH media menjadi basa dan akan terjadi perubahan media dari orange menjadi merah. Caranya goreskan pembiakan sebanyak 1 ose pada permukaan agar miring, inkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C, jika warnanya berubah menjadi merah muda maka hasilnya positif (Alif, 2020).

Uji fermentasi gula yang dilakukan untuk membedakan jenis species *Staphylococcus sp.* (CLSI, 2015) adalah uji fermentasi manitol, trehalose, maltose dan sukrose. Caranya goreskan pembiakan bakteri sebanyak 1 ose pada masing-masing media gula-gula (manitol, trehalose, maltose dan sukrose), selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Uji fermentasi gula bersifat positif apabila terlihat perubahan warna menjadi kekuningan. Uji fermentasi manitol dilakukan untuk membedakan *Staphylococcus* patogen dan nonpatogen dengan menginokulasikan biakan bakteri ke dalam media (Ibrahim, 2017).

Uji *Novobiocin Resistant* dilakukan seperti uji resistensi terhadap antibiotik menggunakan metode difusi menurut cara *Kirby-Bauer* pada sub bab 4.4.5. Namun paper disk antibiotik yang dipakai adalah Novobiocin 5 µg dan adapun Interpretasi pengukuran zona hambatan Novobiocin resisten adalah ≤16mm (CLSI, 2015).

Uji Resistensi Antibiotik

Uji resistensi terhadap antibiotik menggunakan metode difusi menurut cara *Kirby-Bauer*. Biakan Bakteri *Staphylococcus sp.* yang telah diperoleh dari koloni pada MSA dikultur lagi pada media *Blood agar* selama 24 jam pada suhu 37°C, baru kemudian diambil koloninya dilarutkan pada tabung reaksi yang berisi 8 ml NaCl fisiologis, dilakukan homogenisasi menggunakan vortex sampai didapatkan kekeruhan yang sama dengan *standart Mc Farland* 0,5 (Dalynn, 2014).

NaCl fisiologis yang sudah di uji kekeruhannya dengan standart Mc Farland 0,5 kemudian diambil sebanyak 0,2 ml lalu diusapkan dan ratakan perlahan pada seluruh permukaan

media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan biarkan beberapa menit. Uji resistensi antibiotik dilakukan dengan meletakkan 8 jenis paper disk antibiotik yang biasa dipakai untuk pengobatan *Staphylococcus sp.* yaitu, penisilin 10 µg, gentamisin 10 µg, tetrasiklin 30 µg, klindamisin 2 µg, eritromisin 15 µg, cotrimoxazole 5 µg, ciprofloksasin 5 µg dan cefoxitin 30 µg untuk deteksi resisten terhadap antibiotik methicillin. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Interpretasi hasil uji resistensi dapat dilihat kemampuan zona hambat antibiotik yang diujikan terhadap bakteri penyebab mastitis berdasarkan ketentuan CLSI 2021.

Analisis Data

Data kualitatif dianalisis dengan multi koresponden, agar dapat dilihat wilayah penyebaran bakteri *Staphylococcus sp.* penyebab mastitis yang resisten terhadap beberapa antibiotik sebagai strategi pengendalian dan pengobatan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Uji CMT

Hasil penelitian sampel bakteri *Staphylococcus sp.* di peroleh dari 41 ekor sapi penderita mastitis subklinis berasal dari 273 ekor sapi yang diuji CMT, terdapat 35,53 % positif CMT yaitu 97 ekor sapi positif CMT mastitis subklinis dengan rincian 108 sampel susu, diantaranya terdapat 17 sampel positif satu (+), 85 sampel positif dua (++) dan 6 sampel positif tiga (+++). Jumlah sampel mastitis subklinis positif CMT terbesar di Desa Wonosari yaitu 14 ekor dengan prosentase 51,85% dari 27 ekor sapi yang diperiksa (Tabel 1). Dari 108 sampel susu ambing yang positif CMT terdapat 39,81 % atau 43 sampel susu ambing yang paling banyak terdeteksi menderita mastitis subklinis yaitu ambing bagian belakang sebelah kanan.

Pemeriksaan Mikroskopis

Sampel susu dari uji positif CMT diisolasi pada media MSA. Hasil isolasi pada media MSA dari 97 ekor sampel positif CMT terdapat 62 sampel bakteri yang tumbuh pada media MSA

dan sebagian ada yang memfermentasi mannitol sehingga medianya berubah menjadi kuning (Gambar 1a dan 1b). Pada 62 isolat bakteri sampel susu yang tumbuh di media MSA dilakukan pewarnaan Gram dan pemeriksaan mikroskopis sehingga ditemukan bakteri gram positif berwarna ungu, berbentuk bulat atau coccus yang menyerupai buah anggur dan bergerombol (Gambar 1c). Sedangkan jumlah isolat gram positif uji katalase positif yang diduga *Staphylococcus sp.* pada masing-masing 11 desa (Tabel 2).

Hasil Uji Biokimia

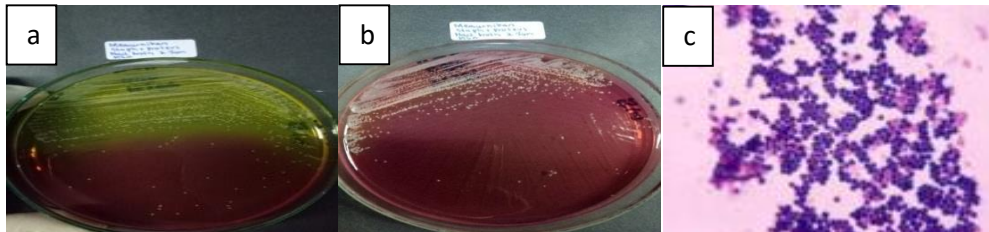
Uji biokimia yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri coccus, katalase positif species *Staphylococcus sp.* berdasarkan Clinical and laboratory standard Institute (CLSI, 2015) yaitu uji katalase, uji koagulase, ornithin, urea, VP, resisten terhadap antibiotik Novobiocin, trehalose, manitol, maltose dan sukrose. Pada 45 isolat bakteri gram positif yang diuji katalase terdapat 41 isolat katalase positif, ditandai dengan munculnya gelembung udara yang diidentifikasi sebagai *Staphylococcus sp.* (Tabel 3).

Hasil Uji Resistensi Antibiotik

Hasil uji resistensi 41 isolat bakteri *Staphylococcus sp.* terhadap delapan jenis antibiotik yaitu penisilin, gentamisin, ciprofloksasin, tetrasiklin, klindamisin, eritromisin, cefoxitin, dan cotrimoxazole, terdapat 7 sampel yang resisten terhadap antibiotika, yaitu: 3 sampel resisten terhadap penisilin yang berasal dari Desa Kalipucang, Tukur dan Ngembal, 3 sampel resisten terhadap tetrasiklin yang berasal dari Desa Kalipucang dan Gendro, 2 sampel resisten terhadap klindamisin yang berasal dari Desa Kalipucang dan Desa Sumberpitu serta 2 sampel resisten terhadap eritromisin yang berasal dari Desa Kalipucang dan Sumberpitu. Profil 41 sampel isolat bakteri *Staphylococcus sp.* yang diuji resistensinya terhadap 8 antibiotik terdapat 4 antibiotik yang resisten yaitu antibiotik penisilin, tetrasiklin, klindamisin dan eritromisin. Dari 41 isolat *Staphylococcus sp.* terdapat 23,2% (Tabel 4 dan 5).

Tabel 1. Hasil uji CMT dan isolasi bakteri pada media MSA

Desa	Jumlah Pemilik	Jumlah Sapi	Uji CMT				MSA	
			(-)	%	(+)	%	(-)	(+)
Blarang	11 orang	34	23	67,6	11	32,4	7	4
Kalipucang	2 orang	40	28	70	12	30	3	9
Wonosari	1 orang	27	13	48,1	14	51,8	5	9
Tutur	2 orang	33	21	63,6	12	36,4	1	11
Pungging	2 orang	20	15	75	5	25	3	2
Ngembal	2 orang	16	10	62,5	6	37,5	0	6
Gendro	2 orang	18	9	50	9	50	4	5
Tlogosari	2 orang	24	16	66,6	8	33,3	3	5
Sumberpitu	2 orang	30	20	66,6	10	33,3	3	7
Andonosari	2 orang	20	14	70	6	30	4	2
Kayukebek	2 orang	11	7	63,6	4	36,4	2	2
Total	30 orang	273	176	64,5	97	35,53	35	62



Gambar 1. (a) Bakteri yang merubah media MSA menjadi kuning, (b) Bakteri yang tumbuh pada media MSA tapi tidak merubah warna medianya, (c) Pemeriksaan mikroskopis bakteri *Staphylococcus sp.* Gram positif, coccus, bergerombol.

Tabel 2. Hasil identifikasi *Staphylococcus sp.* dengan pewarnaan gram dan uji katalase

Desa	MSA (+)	Pewarnaan Gram		Uji Katalase			
		Negatif	Positif	(-)		(+))	
				Σ	%	Σ	%
Blarang	4	1	3	0	0	3	75
Kalipucang	9	2	7	1	14,28	6	66,7
Wonosari	9	3	6	0	0	6	66,7
Tutur	11	5	6	1	16,67	5	41,6
Pungging	2	1	1	0	0	1	50
Ngembal	6	2	4	0	0	4	66,7
Gendro	5	1	4	1	0,25	3	60
Tlogosari	5	0	5	1	20	4	80
Sumberpitu	7	0	7	0	0	7	100
Andonosari	2	1	1	0	0	1	50
Kayukebek	2	1	1	0	0	1	50
Total	62	17	45	4	8,89	41	91,11

Tabel 3. Hasil uji biokimia identifikasi *Staphylococcus sp.*

Desa	<i>Coagulase-negative Staphylococci (CoNS)</i>									
	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. lugdunensis</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. schleiferi</i>	<i>S. simulans</i>	<i>S. capitis</i>	<i>S. cohNii</i>
Blarang	3	-	-	1	1	-	-	-	1	-
Kalipucang	6	1	-	3	-	1	1	-	-	-
Wonosari	6	-	-	1	-	-	2	-	3	-
Tutur	5	2	-	-	-	2	1	-	-	-
Pungging	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Ngembal	4	1	-	-	-	1	-	-	-	2
Gendro	3	-	-	-	-	-	-	3	-	-
Tlogosari	4	-	-	-	-	-	2	2	-	-
Sumberpitu	7	2	-	-	-	-	2	3	-	-
Andonosari	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Kayukebek	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Total	41	6	1	5	2	4	8	9	4	2

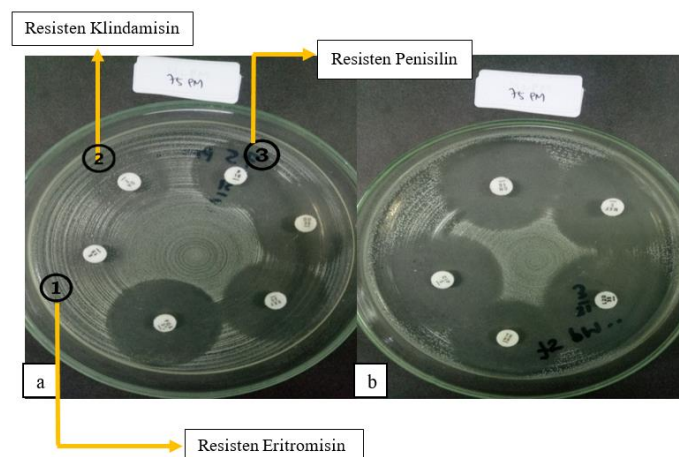
Tabel 4. Hasil rekapitulasi uji kepekaan antibiotik

Desa	<i>Staphylo coccus sp.</i>	Penisilin			Gentamisin			Ciprofloksasin			Tetrasiklin			Klindamisin			Eritromisin			Cefoxitin			Cotrimoxazole		
		S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R			
Blarang	3	3	0	0	3	0	0	3	0	0	3	0	0	3	0	0	3	0	0	3	0	0	3	0	0
Kali pucang	6	5	0	1	6	0	0	6	0	0	5	0	1	5	2	1	5	0	1	6	0	0	6	0	0
Wonosari	6	6	0	0	6	0	0	6	0	0	6	0	0	6	2	0	6	0	0	6	0	0	6	0	0
Tutur	5	4	0	1	5	0	0	5	0	0	5	0	0	4	1	0	5	0	0	5	0	0	5	0	0
Pungging	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0
Ngembal	4	3	0	1	4	0	0	4	0	0	4	0	0	4	0	0	4	0	0	4	0	0	4	0	0
Gendro	3	3	0	0	3	0	0	3	0	0	1	0	2	3	0	0	3	0	0	3	0	0	3	0	0
Tlogosari	4	4	0	0	4	0	0	4	0	0	4	0	0	4	0	0	4	0	0	4	0	0	4	0	0
Sumberpitu	7	7	0	0	7	0	0	7	0	0	7	0	0	5	1	1	6	0	1	7	0	0	7	0	0
Andonosari	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0
Kayukebek	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0
Total	41	38	0	3	41	0	0	41	0	0	38	0	3	37	6	2	39	0	2	41	0	0	41	0	0
% Resisten	23,2	7,3			0			0			7,3			4,8			4,8			0			0		

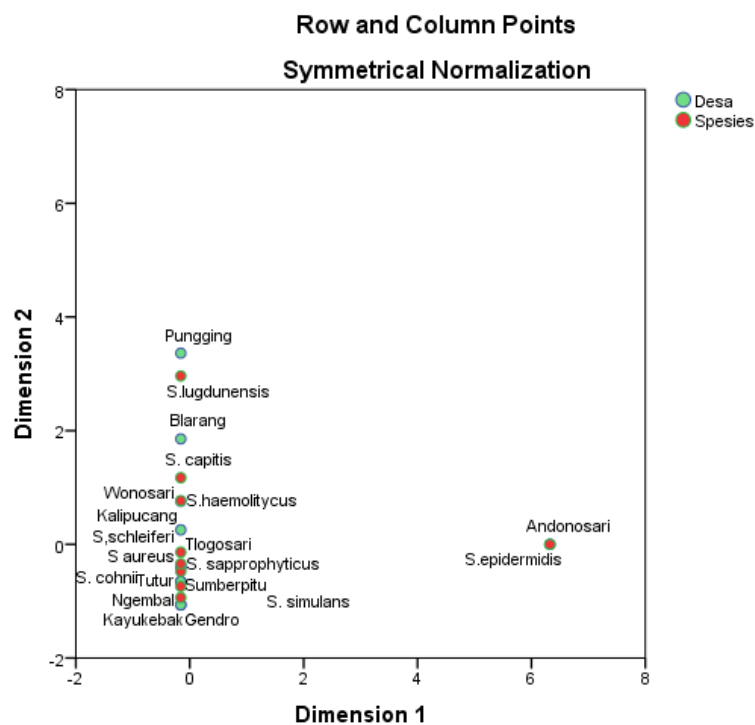
R= Resisten, S= Sensitif, I= Intermediate.

Tabel 5. Isolat *Staphylococcus sp.* yang resisten terhadap antibiotik

Kode Sampel	Spesies	Desa	Uji Kepekaan Antibiotik			
			Penisilin	Tetrasiklin	Klindamisin	Eritromisin
17/PM75	<i>S. saprophyticus</i>	Kalipucang	R(20)	S(26)	R(6)	R(6)
19/PM76	<i>S. haemolyticus</i>	Kalipucang	S(40)	R(12)	S(32)	S(32)
41/PM41	<i>S. aureus</i>	Tutur	R(17)	S(27)	S(29)	S(29)
53/PM40	<i>S. aureus</i>	Ngembal	R(18)	S(24)	S(26)	S(29)
54/PM134	<i>S. simulans</i>	Gendro	S(29)	R(9)	S(26)	S(28)
64/PM136	<i>S. simulans</i>	Gendro	S(30)	R(10)	S(24)	S(26)
76/PM145	<i>S. simulans</i>	Sumberpitu	S(36)	S(25)	R(6)	R(6)



Gambar 2. (a) Pengukuran zona hambat resisten antibiotik terhadap *Staphylococcus sp.*
 (b) Pengukuran zona hambat antibiotik tidak resisten terhadap *Staphylococcus sp.*



Gambar 3. Hasil pemetaan analisis koresponden *Staphylococcus sp.* yang ditemukan dengan letak wilayah desanya.

Sedangkan isolat *multidrug-resistant* telah ditemukan satu sampel di Desa Kalipucang yaitu *S. saprophyticus* yang resisten terhadap 3 jenis golongan antibiotik diantaranya penisilin, klindamisin dan erythromycin. Ukuran zona hambat uji resistensi antibiotik penisilin pada isolat tersebut adalah 20 mm (dikatakan resisten jika zona hambat ≤ 28 mm), terhadap antibiotik klindamisin 6 mm (dikatakan resisten jika zona hambat ≤ 14 mm), dan terhadap antibiotik eritromisin 6 mm (dikatakan resisten jika zona hambat ≤ 13 mm) (Tabel 5 dan Gambar 2).

Hasil Analisis Korespondensi

Hasil pemetaan analisis korespondensi, bakteri patogen *S. aureus* banyak dijumpai pada daerah perbukitan yaitu Desa Kalipucang, Tutur, Ngembal dan Sumberpitu, sedangkan bakteri non patogen *S. epidermidis* hanya dijumpai di Desa Andonosari, hal ini dapat dilihat pada Gambar 3.

Tingkat kejadian resistensi antibiotik pada wilayah kerja Koperasi Setiakawan Nongkojajar, Pasuruan Provinsi Jawa Timur masih tergolong rendah yaitu 23,2% dengan rincian resisten terhadap antibiotik penisilin sebesar 7,3%, resisten terhadap antibiotik tetrasiklin 7,3%, resisten terhadap antibiotik klindamisin 4,8%, resisten terhadap antibiotik erythromycin 4,8%. Pada wilayah kerja Koperasi Setiakawan Nongkojajar, Pasuruan Provinsi Jawa Timur yang terdiri dari 11 desa tidak ditemukan isolat *Staphylococcus sp.* penyebab mastitis subklinis yang resisten terhadap antibiotik gentamisin, ciprofloksasin, cefoxitin, dan cotrimoxazole, sehingga keempat jenis antibiotik tersebut masih aman digunakan untuk pengobatan antibiotik pada kasus mastitis di wilayah kerja Koperasi Setiakawan Nongkojajar, Pasuruan Provinsi Jawa Timur.

Kejadian mastitis terutama mastitis subklinis sangat tinggi, dan lebih dari 85% kejadian mastitis tersebut disebabkan oleh bakteri terutama *Staphylococcus sp.* Masuknya bakteri tersebut kedalam tubuh ternak dapat terjadi pada keadaan defisiensi vitamin E atau selenium, yang menyebabkan kemampuan tubuh ternak khususnya sel PMN dalam fagositosis dan membunuh bakteri menjadi menurun (Hurley dan

Morin, 2000). Oleh karena itu, tindakan pencegahan dan pengendalian mastitis sangat diperlukan sebagai salah satu upaya penanganan penyakit di lapangan. Ada beberapa strategi pencegahan dan pengendalian mastitis pada sapi perah, yaitu dengan pemberian asupan pakan yang baik, tes mastitis secara teratur, pencelupan (*dipping*) puting dengan antiseptik, menjaga kebersihan ambung dan dilakukan uji resistensi antibiotik terhadap ternak yang akan diterapi pengobatan dengan antibiotik serta pemberian antibiotik sebaiknya dilakukan pada masa kering kandang. Karena kepekaan atau resistensi berbagai antibiotik menentukan dalam pemilihan antibiotik yang sesuai dan tepat untuk mengobati infeksi bakteri. Sehingga sensitivitas setiap bakteri patogen terhadap suatu antibiotik harus diuji untuk menentukan penyebab pertumbuhan bakteri tersebut terhambat, mati atau tidak ada penghambatan sehingga pengobatan tidak menimbulkan permasalahan baru (Sayu, 2010).

Berdasarkan penelitian menunjukkan bahwa isolat *Staphylococcus sp.* yang didapatkan tidak mengalami resistensi terhadap beberapa jenis antibiotik, yaitu gentamisin, ciprofloksasin, cefoxitin, dan cotrimoxazole. Kemungkinan antibiotik ini jarang digunakan oleh peternak dan masih dalam pengawasan sehingga penggunaannya terukur. Namun, terdapat hasil berbeda pada penelitian. Perbedaan hasil berbagai penelitian ini menunjukkan pola resistensi antibiotik *Staphylococcus sp.* berubah. Melalui mekanisme yang berbeda, *Staphylococcus sp.* berkembang menjadi resisten terhadap antibiotik yang berbeda dari waktu ke waktu. Isolat *Staphylococcus sp.* dari sampel susu yang resisten terhadap antibiotik ini merupakan tantangan besar dalam pengobatan karena juga biasa digunakan untuk pengobatan pada manusia. Dari penelitian ini, diketahui bahwa cotrimoksazol, gentamisin, cefoxitin, ciprofloksasin cukup efektif melawan *Staphylococcus sp.* Masih belum ada obat yang mencapai kerentanan 100%, jika tindakan yang diperlukan tidak diambil terhadap penggunaan antibiotik yang tidak sesuai, prevalensi *Staphylococcus sp.* yang resisten antibiotik dapat meningkat lebih lanjut, hal itu dapat

menyebabkan bahaya bagi kesehatan hewan dan manusia (Sudhanthiramani *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa profil bakteri *Staphylococcus sp.* penyebab mastitis subklinis di Kecamatan Tukur resisten terhadap empat jenis antibiotik yaitu penisilin, tetrasiklin, klindamisin dan eritromisin. Tingkat resistensi bakteri *Staphylococcus sp.* penyebab mastitis subklinis terhadap delapan jenis antibiotik yaitu penisilin, gentamisin, ciprofloksasin, tetrasiklin, klindamisin, eritromisin, cefoxitin, dan cotrimoxazole adalah 23,2% resisten terhadap antibiotik, dengan rincian resisten terhadap penisilin sebesar 7,3%, resisten terhadap antibiotik tetrasiklin 7,3%, resisten terhadap antibiotik klindamisin 4,8% dan resisten terhadap antibiotik eritromisin 4,8%. Ditemukan satu isolat *multidrug-resistant* yaitu *S. saprophyticus* dari tujuh isolat *Staphylococcus sp.* yang resisten terhadap antibiotik pada sapi perah penderita mastitis subklinis yang terdiri dari dua isolat *S. aureus*, satu isolat *S. haemolyticus*, satu isolat *S. saprophyticus* dan tiga isolat *S. Simulans*. Wilayah yang terdapat bakteri *S. saprophyticus multidrug-resistant* pada sapi perah penderita mastitis subklinis adalah Desa Kalipucang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Universitas Airlangga, Pusat Veteriner Farma, KPSP Setiakawan Nongkojajar, dan semua pihak yang sudah terlibat atas izin, fasilitas, dan dukungan yang telah diberikan kepada peneliti untuk melaksanakan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Alif, R. H. K. (2020). Uji Aktivitas Ekstrak Daun Murbei Hitam (*Morus nigra* L) sebagai Antibiofilm *Klebsiella pneumoniae*. Universitas Islam Malang.
- Aswin, R. K., Ramandinianto, S. C., & Effendi, M. H. (2020). A Review of Livestock-

Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) on Bovine Mastitis. *Systematic Reviews in Pharmacy*. 11, 7.

- Basak, S., Singh, P., & Rajurkar, M. (2016). Multidrug Resistant and Extensively Drug Resistant Bacteria: A Study. *Journal of Pathogens*, 11(1), 45.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2015). Verification of Commercial Microbial Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing System. 1th Edition. CLSI guideline M52. Clinical and Laboratory Standards Institute.

- Dalynn, B. (2014). McFarland Standard, For In Vitro Use Only. Catalogue No. TM50-TM60. Dalynn Biologicals Inc. Canada.

Estiningsih D., Puspitasari, I., & Nuryastuti, T. (2016). Identifikasi infeksi multidrug-resistant organisms (MDRO) pada pasien yang dirawat di bangsal neonatal intensive care unit (NICU) rumah sakit. *Jurnal Manajemen dan Pelayanan Farmasi*, 6(3).

- Frey, Y. Joan, P. R., Andreas, T., Sybille, S., & Vincent, P. (2013). Bacteria in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 96, 4.

Gutomo, A. (2019). Koperasi Peternakan Sapi Perah Setia Kawan Memproduksi Susu 108 Ton Perhari. Pipnews.co.id (Pusat Informasi Gerakan Koperasi Indonesia).

- Hariri. (2018). KSP Setia Kawan Nongkojajar Pasuruan. Majalah peluang.com. Edisi Maret 2018.

Hayati L. N., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Chusniati, S., Yunita, M. N., & Wibawati, P.A. (2019). Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro,

- Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), 76-82.
- Hurley, W. L., & Morin, D. E. (2000). Mastitis Lesson A.. Lactation Biology. ANSCI 308.
- Ibrahim, J. (2017). Tingkat Cemaran Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Daging Ayam Yang Dijual Di Pasar Tradisional Makassar. Jurusan Ilmu Peternakan Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Kementerian Pertanian. (2017). Outlook Susu, Komoditas Pertanian Sub Sektor Peternakan. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. Jakarta. ISSN: 1907-1507.
- Kot, B. K., Wierzchowska, M., Piechota, A., & Gruzewska. (2020). Antimicrobial Resistance Patterns in MethicillinResistant *Staphylococcus aureus* from Patients Hospitalized during 2015–2017 in Hospitals in Poland. *Journal Medical Principles and Practise*, 2(1), 5.
- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., & Giske, C. G. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrugresistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18, 268–281.
- Moroni, P., Pisoni, G., Antonini, M., Ruffo, G., Carli, S., Varisco, G., & Boettcher, P. (2005). Subclinical Mastitis and Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus caprae* and *Staphylococcus epidermidis* Isolated from Two Italian Goat Herds. *Journal Dairy Science*, 88,1694-1704.
- Mustahal, A. W. (2012). Identifikasi bakteri yang menginfeksi ikan garra rufa (cyprinion macrostamus) di Balai Besar Karantina Ikan Soekarno-Hatta. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 2(2), 65-70.
- Nasution, M. Y., Ahmad, S. S. P, Fitri, C., & Wulandari. (2020.) Isolasi dan identifikasi biokimia bakteri asal sungai batang gadis Sumatera Utara. *Jurnal Biosains*, 6(3).
- Ratih N. P., Handijatno, D., Koesdarto, S., & Yudhana, A. (2017). Karakterisasi Protein VirB4 Brucella abortus Isolat Lokal dengan Teknik Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis. *Jurnal Veteriner*, 13(1).
- Reni, I., & Prasdini, W. A. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri pada Susu Mastitis Subklinis di Balai Besar Pelatihan Peternakan Batu. Proc. of the 20th FAVA CONGRESS and The 15th KIVNAS PDHI.
- Sarudji, S., Chusniati, S., Tyasningsih, W., & Handijatno, D. (2017). Petunjuk Praktikum Penyakit Infeksius Progam S-1 Kedokteran Hewan. Departemen Pendidikan Nasional Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Sayu, P. Y. P.. (2010). Patogenesis mastitis subklinis pada sapi perah yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. This publication at: <https://www.researchgate.net/publication/318503660>.
- Sekarini, A. A. A. D., Ita, K., & Mas, R. A. A. Syamsunarno. (2020). Efektivitas Antibakteri Senyawa Kurkumin terhadap Foodborne Bacteria: Tinjauan Curcuma longa untuk Mengatasi Resistensi Antibiotik. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 4(2).
- Sudhanthiramani, S., Swetha, C. S., & Barathy, S. (2015). Prevalence of Antibiotic Resistant *Staphylococcus aureus* from raw milk samples collected from the Local Vendors in

- the Region of Tirupathi, India. *Veterinary World*, 8, 2231-0916.
- Tsakris, A., Douboyas, J., &Kyriakis, K. (2013). Multidrug aureus Resistance among Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Greece. *Journal of Chemotherapy*, 8(4), 251-253.
- Wahyuni, A. E., Agustina, T. H., Satria, F. X., & Supriyanto, P. (2014). Detection of Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Isolated from Dairy Cattle Milk". Proceeding of the 3 Joint International Meetings. Pp: 57-58.
