

## KARAKTERISASI FENOTIPE *Streptococcus suis*

### THE PHENOTYPE CHARACTERIZATION OF *Streptococcus suis*

Khusnan<sup>1</sup> dan Siti Isrina Oktavia Salasia<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Akademi Peternakan Brahmaputra, Jl. Gurami Nitikan Uh VI/237 Sorosutan Yogyakarta

<sup>2</sup>Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Sekip Unit II Yogyakarta 55281  
Telp./Fax. (0274) 563083

#### ABSTRAK

*Streptococcus suis* telah diketahui menyebabkan meningitis, artritis dan septikemia pada babi, manusia dan hewan-hewan lain. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sifat fenotipe *Streptococcus suis* meliputi sifat pertumbuhannya dalam media cair, media *soft agar*, morfologi koloni dan sifat pelekatan dalam uji heksadekan. Dari 34 isolat *Streptococcus suis* yang digunakan dalam penelitian ini terdapat 5 isolat tumbuh jernih dalam media cair dengan sedimen tampak pada dasar tabung, tumbuh kompak dalam media *soft agar*, dengan pewarnaan *methylene blue* koloni membentuk rantai panjang dan berdasar uji heksadekan bersifat hidrofob. Kultur *Streptococcus suis* yang lain (29 isolat) tumbuh keruh dalam media cair, tumbuh difus dalam media *soft agar*, membentuk koloni tunggal atau rantai pendek dan bersifat hidrofil.

**Kata kunci:** *Streptococcus suis*, fenotipe

#### ABSTRACT

*Streptococcus suis* has been known as a causative agent of meningitis, arthritis and septicaemia in pigs, human and other animals. The purpose of this study was to evaluate the growth properties of *Streptococcus suis* in the fluid medium, in the soft agar, formation of chain colonies and the hexadecane adherence test. The results of this study showed that 5 *Streptococcus suis* from 34 isolates grew as granular sediment, formed compact colonies in soft agar, stained long chain colonies with methylene blue and had hydrophobic surfaces. The remaining 29 cultures of *Streptococcus suis* grew with uniform turbidity in fluid medium, formed diffuse colonies in soft agar, stained single or short colonies and appeared to have a more hydrophilic surface.

**Key words:** *Streptococcus suis*, phenotype

## PENDAHULUAN

*Streptococcus suis* merupakan salah satu agen potensial pencetus penyakit pada babi. *Streptococcus suis* dapat diisolasi dari berbagai macam hewan dan dari manusia yang terinfeksi. Pada manusia *S. suis* dapat menyebabkan artritis, meningitis dan septikemia (Perch *et al.*, 1968; Lütticken *et al.*, 1986; Arends dan Zanen, 1988). Manusia yang terinfeksi *S. suis* biasanya yang bekerja sebagai peternak babi atau yang sering berhubungan dengan produk babi, misalnya pekerja di rumah potong hewan dan penjual daging (Clifton-Hadley, 1983; Chau *et al.*, 1983; Robertson dan Balckmore, 1989).

Kultur *Streptococcus suis* dapat membentuk berbagai macam substansi intra maupun ekstraseluler yang berperan dalam menentukan sifat patogenisitas. Faktor-faktor yang berperan dalam virulensi *S. suis* antara lain protein virulen spesifik, hemaglutinin, protein hidrofobik, dan juga adanya fimbria pada permukaan *S. suis* (Vecht *et al.*, 1991; Gottschalk *et al.*, 1990; Salasia dan Lämmmler, 1994a; Salasia dan Lämmmler, 1994b). Faktor-faktor virulensi tersebut dapat dikaji keberadaannya meliputi berbagai sifat antigen permukaan bakteri.

Dalam penelitian ini ingin dikaji sifat-sifat *S. suis* ditinjau dari sifat pertumbuhannya dalam media cair, media *soft agar*, pembentukan koloni dan sifat pelekatan pada uji heksadekan. Sifat-sifat tersebut dapat digunakan untuk karakterisasi *S. suis* secara individual yang dapat dipergunakan untuk studi epidemiologi.

## MATERI DAN METODE

Dalam penelitian ini digunakan 31 *S. suis* isolat babi dan 4 isolat manusia yang diperoleh dari Prof. Dr. C. Lämmmler, Institut für Bakteriologie und Immunologie, JLU-Giessen, Germany. Sifat pertumbuhan *S. suis* dalam media cair dan *soft agar* ditentukan berdasarkan metode Salasia (1994). Bakteri ditanam dalam 10 ml *Todd-Hewitt broth* (THB, Oxoid, Germany), diinkubasi pada 37°C selama 18-20 jam, pertumbuhan bakteri diamati berdasarkan kekeruhan pertumbuhan atau terbentuknya sedimen di dasar tabung dengan supernatan yang jernih.

Pertumbuhan bakteri dalam media *soft agar* dilakukan dengan cara mengencerkan larutan bakteri sebanyak 0,1 ml dengan 0,14 mol/l NaCl (1:1000). Larutan bakteri yang telah diencerkan ditanam dalam 10 ml 0,15% *brain heart infusion* (BHI, Gibco, Germany), pada temperatur 37°C selama 18 jam. Sifat pertumbuhan dalam media *soft agar* dibaca dengan cara melihat morfologi koloni yang tumbuh kompak atau difus.

Pembentukan koloni bakteri dilakukan dengan cara meneteskan kultur *S. suis* pada objek gelas, dikeringkan diudara, difiksasi dengan pemanasan dan diwarnai dengan 15% *methylene blue* (Merck, Darmstadt, Germany) selama 10 menit, kemudian dicuci dengan 15 g/100 ml alkohol 96%.

Uji heksadekan dilakukan dengan cara menanam bakteri dalam 10 ml THB selama 18-24 jam pada 37°C, kemudian dicuci dan dilarutkan dalam 3 ml *phosphat buffer saline* (PBS), diatur dengan spektrofotometer dengan absorben 0,5 pada  $\lambda$  540 nm (Spectronic 20, Bousch and Lomb, Rochester, New York, USA). Suspensi bakteri kemudian dicampur dengan 0,8 ml *n-hexadecan* (Merck) selama 30 detik, kemudian dibiarkan selama 15 menit pada temperatur kamar. Setelah terlihat pemisahan menjadi 2 fase, fase yang terdapat dalam PBS diukur dengan spektrofotometer dengan  $\lambda$  540 nm. Persentase bakteri yang melekat pada fase heksadekan diekspresikan sebagai % hidrofobisitas (Wibawan dan Lämmmler, 1992), dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\% \text{ pelekatan pada heksadekan} = \frac{A_{540} - (A_{540} + \text{Heks})}{A_{540}} \times 100$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 35 isolat *Streptococcus suis* asal babi dan manusia yang digunakan dalam penelitian ini terdapat 5 isolat tumbuh jernih dalam media cair dengan sedimen tampak pada dasar tabung, tumbuh kompak dalam media *soft agar*, dengan pewarnaan *methylene blue* koloni membentuk rantai panjang (> 40 bakteri/rantai) dan bersifat hidrofob dengan persentase pelekatan pada heksadekan  $\geq$  75%. Kultur *Streptococcus suis* yang lain (30 isolat) tumbuh keruh dalam media cair, tumbuh difus dalam media *soft agar*, membentuk koloni tunggal

Tabel 1. Sifat pertumbuhan *Streptococcus suis* dalam media cair, soft agar dan sifat hidrofobisitas berdasar uji heksadekan.

Asal Isolat	Jumlah Isolat	Pertumbuhan dalam THB		Pertumbuhan dalam Soft agar		Uji Heksadekan		
		jernih (sedimen)	keruh	kompak	difus	++	+	-
Babi	31	5	26	5	26	5	6	20
Manusia	4	-	4	-	4	-	-	4
$\Sigma$	35	5	30	5	30	5	6	24

THB: *Tod-Hewitt broth*

++ : adesi pada heksadekan  $\geq 75\%$

+ : adesi pada heksadekan 26-74%

- : adesi pada heksadekan  $\leq 25\%$



Gambar 1. Pertumbuhan *Streptococcus suis* dalam media cair, tampak sedimen dengan supernatan jernih (kultur P217, kiri); pertumbuhan keruh (kultur P178, kanan).



Gambar 2. Morfologi koloni *Streptococcus suis* tampak kompak dalam media soft agar (kultur P217, kiri); pertumbuhan difus (kultur P178, kanan).

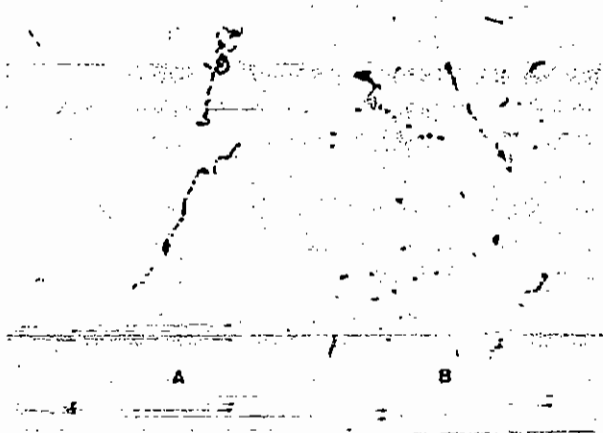
atau rantai pendek (< 20 bakteri/rantai) dan bersifat hidrofil dengan persentase pelekatan pada heksadekan  $\leq 25\%$  sebanyak 24 isolat dan 26-74% sebanyak 6 isolat (Tabel 1, Gambar 1-4).

Hubungan antara pertumbuhan dan hidrofobisitas dapat ditunjukkan dengan uji pelekatan bakteri pada heksadekan (Tabel 1; Gambar 4). Pada uji ini bakteri dipisahkan antara fase air dan fase heksadekan. Bakteri yang

mempunyai sifat hidrofob, melekat pada fase heksadekan dan hanya sedikit atau sama sekali tidak terdapat pada fase air, sedangkan bakteri yang mempunyai sifat hidrofil ditemukan pada fase air. Dari uji heksadekan diketahui bahwa 5 kultur *S. suis* yang tumbuh jernih didalam THB mempunyai sifat hidrofob. Penampilan mikrokapsul dari kultur *S. suis* mempunyai kaitan dengan sifat pertumbuhan pada media cair, media padat dan sifat



Gambar 3. Pertumbuhan *Streptococcus suis* dengan pewarnaan *methylene blue*, dibawah mikroskop (perbesaran lemah), tampak koloni dengan rantai panjang (kultur P217, A); koloni tunggal atau rantai pendek (kultur P178, B)



Gambar 4. *Streptococcus suis* kultur P217 bersifat hidrofob (kiri) dan kultur P178 bersifat hidrofil (kanan).

hidrofobitas (Salasia, 1994). Sifat serupa dapat pula diamati pada streptokokus grup B (Wibawan dan Lämmler, 1990; Salasia *et al.*, 1994) dan streptokokus grup C (Salasia, 1998; Wibawan *et al.*, 1998). Protein yang bertanggung jawab terhadap sifat hidrofobitas ini diduga berperan dalam

pelekatan awal streptokokus pada sel hospes (Hasty *et al.*, 1992; Salasia *et al.*, 1995; Salasia, 2001).

*Streptococcus suis* yang tumbuh dengan formasi rantai koloni pendek (< 20 bakteri/rantai), ternyata tumbuh keruh dalam media cair. Kultur *S. suis* dengan formasi rantai koloni panjang (> 40 bakteri/rantai), sebaliknya tumbuh jernih dengan membentuk sedimen. Pola kekeruhan pertumbuhan bakteri dalam media cair diduga berkaitan dengan formasi rantai bakteri yang umumnya lebih pendek, dibandingkan dengan bakteri yang tumbuh membentuk sedimen, umumnya membentuk rantai panjang (Wibawan *et al.*, 1998).

*Streptococcus suis* dengan koloni pendek dan tumbuh keruh dalam media cair, menampakkan pertumbuhan difus dalam media *soft agar*, sedangkan kultur dengan koloni panjang dan tumbuh dengan sedimen dalam media cair, tumbuh kompak dalam media *soft agar*. Bentuk koloni bakteri difus diduga berkaitan dengan kemampuan invasi bakteri dalam jaringan tubuh hospes (Wibawan *et al.*, 1998). Sifat pertumbuhan tersebut berkaitan dengan pembentukan kapsul bakteri. Identifikasi kapsul bakteri pada *S. agalactiae* dan *S. suis* serotipe 2 dengan metode serum *soft agar* pernah dilakukan oleh Khusnan (1995). Kapsul bakteri bertanggung jawab terhadap sifat pelekatan dan kemampuan menahan penyingkiran bakteri oleh sel-sel polimorfonuklear (PMN). Bakteri yang berkapsul umumnya lebih patogen dibandingkan dengan bakteri yang tidak berkapsul (Wibawan dan Lämmler, 1990; Salasia *et al.*, 1995; Wibawan *et al.*, 1998).

Berdasar karakter pertumbuhan dan sifat hidrofobitas maka sifat-sifat tersebut dapat digunakan untuk menentukan patogenitas *S. suis*.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Arends, J.P. and Zanen, H.C., 1988. Meningitis caused by *Streptococcus suis* in humans. *Rev. Infect. Dis.* 10: 131-137.
- Chau, P.Y., Huang, C.Y., and Kay, R., 1983. *Streptococcus suis* meningitis. An important under diagnosed disease in Hong Kong. *Med. J. Aust.* 1: 414-417.

- Clifton-Hadley, F.A., 1983. *Streptococcus suis* type 2 infections. *Br. Vet. J.* 139: 1-5.
- Gottschalk, M., Lebrum, A., Jacques, M., and Higgins, R., 1990. Hemagglutination properties of *Streptococcus suis*. *J. Clin. Microbiol.* 28: 2156-2158.
- Khusnan, 1995. Identifikasi kapsul *Streptococcus suis* tipe 2 dan *Streptococcus agalactiae* dengan metode serum soft agar. Arena Almamater, *Majalah Ilmiah Kopertis Wil. V.* No.35 Tahun X.
- Hasty, D.L., Ofek, I., Courtney, H.S., and Doyle, R.J., 1992. Multiple Adhesins of Streptococci. *Infect. Immun.* 60: 2147-2152.
- Lütticken, R., Temme, N., Hahn, G., and Bartelheimer, E.W., 1986. Meningitis caused by *Streptococcus suis*: Case report and review of the literature. *Infection* 14: 181-185.
- Perch, B., Kristjansen, P., and Skadhauge, K.N., 1968. Group R streptococci pathogenic for man. Two cases of meningitis and one fatal case of sepsis. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.* 74: 69-76.
- Robertson, I.D. and Blackmore, D.K., 1989. Occupational exposure to *Streptococcus suis* type 2. *Epidemiol. Infect.* 103: 157-164.
- Salasia, S.I.O., Wibawan, I.W.T., Lämmmler, C., and Sellin, M., 1994. Phase variation in streptococci of serological group B. *APMIS* 102: 925-930.
- Salasia, S.I.O., Lämmmler, C., and Hermann, G., 1995. Properties of a *Streptococcus suis* isolate of serotype 2 and two capsular mutants. *Vet. Microbiol.* 45: 151-156.
- Salasia, S.I.O., 1994. Untersuchungen zu mutmaßlichen Pathogenitätsfaktoren von *Streptococcus suis*. *Vet. Med. Diss.* Justus-Liebig-Universität Giessen, Germany.
- Salasia, S.I.O. and Lämmmler, C., 1994a. Detection of virulence-associated proteins of *Streptococcus suis* by cultivation of the bacteria on nitrocellulose membranes. *Med. Sci. Res.* 22: 347-348.
- Salasia, S.I.O. and Lämmmler, C., 1994b. Occurrence of a haemagglutinating adhesin among virulent and avirulent isolates of *Streptococcus suis*. *Med. Sci. Res.* 22: 763-764.
- Salasia, S.I.O., 1998. Sifat adesi dan fagositosis *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* isolat Indonesia. *J. Sain Vet.* 16, No. 1: 42-50.
- Salasia, S.I.O., 2001. Peranan adesi dalam proses pelekatan *Streptococcus suis* pada sel-sel hospes. *Media Vet.* (in press).
- Vecht, U., Wisselink, H.J., Jellema, M.J., and Smith, H.E., 1991. Identification of two proteins associated with virulence of *Streptococcus suis* type 2. *Infect. Immun.* 59: 3156-3162.
- Wibawan, I.W.T. and Lämmmler, C., 1990. Properties of group B streptococci with protein surface antigen X and R. *J. Clin. Microbiol.* 28: 2834-2836.
- Wibawan, I.W.T. and Lämmmler, C., 1992. Relationship between group B streptococcal serotype and cell surface hydrophobicity. *J. Vet. Med.* B39: 376-382.
- Wibawan, I.W.T., Pribadi, E.S., Huminto, H., Estuningsih, S., dan Priyosoeryanto, B.P., 1998. Karakterisasi faktor virulen *Streptococcus sp.* grup C asal wabah pada kera dan babi Bali dab beberapa daerah di Indonesia. *Media Veteriner*, 5(4): 7-11.