

## Identifikasi Molekuler Bakteri *Staphylococcus sp.* dan *Staphylococcus aureus* Penyebab Mastitis Subklinis pada Ternak Kambing Perah

### *Molecular Identification of Staphylococcus sp. and Staphylococcus aureus Causes of Subclinical Mastitis in Dairy Goats*

Clara Ajeng Artdita\*, Fatkhanuddin Aziz, Nurulia Hidayah, Achmad Fauzi, Triastuti Septi Wulandari<sup>2</sup>, Reza Luthfi Hamid<sup>2</sup>

Program Studi Teknologi Veteriner, Departemen Teknologi Hayati dan Veteriner, Sekolah Vokasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

\*Email: clara.ajeng@ugm.ac.id

Naskah diterima: 13 Oktober 2020, direvisi: 30 Maret 2021, disetujui: 24 Juni 2021

#### Abstract

Mastitis is intra-mammary infection (IMI) of dairy animals. Subclinical mastitis is often associated with the incidence of mastitis in small ruminant farms such as Peranakan Etawah, Saanen and Sapera dairy goats. Genus *Staphylococcus* is known as one of the the main pathogen causing mastitis. This research aimed to identified *Staphylococcus sp.* and *Staphylococcus aureus* from collected isolates by PCR. Twenty six isolates used in this study were isolated from fresh milk goat samples (Peranakan Etawah, Saanen, and Sapera) from Kokap (Kulonprogo) and Turi (Sleman), Daerah Istimewa Yogyakarta and previous study. DNA templates were extracted and subjected for 23S rRNA gene of *Staphylococcus sp.*, *Staphylococcus aureus*, and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). A total of 12 isolates were identified as *Staphylococcus sp.* and 1 isolate was *Staphylococcus aureus*. In addition, the isolate identified by *Staphylococcus aureus* was not MRSA group.

**Keywords:** dairy goat; molecular identification; *Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus sp.*; subclinical mastitis

#### Abstrak

Mastitis merupakan radang pada *glandula mammae* (ambing) ternak perah. Mastitis tipe subklinis sering dikaitkan pada kejadian mastitis di peternakan ruminansia kecil seperti kambing perah (kambing Peranakan Etawah, Saanen, dan Sapera). Genus *Staphylococcus* diketahui merupakan salah satu patogen utama penyebab mastitis. Tujuan penelitian adalah mengidentifikasi bakteri *Staphylococcus sp.* dan *Staphylococcus aureus* dari koleksi isolat menggunakan teknik PCR. Dua puluh enam isolat yang digunakan pada penelitian ini berasal dari sampel susu kambing perah di daerah Kokap (Kulonprogo) dan Turi (Sleman), Daerah Istimewa Yogyakarta dan penelitian sebelumnya. Ekstraksi DNA dilakukan pada semua isolat dan digunakan untuk mendeteksi gen spesifik 23s rRNA *Staphylococcus sp.* dan *Staphylococcus aureus*, serta methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Hasil PCR menunjukkan sebanyak 12 isolat teridentifikasi *Staphylococcus sp.* dan 1 isolat diantaranya adalah *Staphylococcus aureus*. Satu isolat teridentifikasi *Staphylococcus aureus* tersebut bukan merupakan kelompok bakteri MRSA.

**Kata kunci:** identifikasi molekuler; kambing perah; mastitis subklinis; *Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus sp.*

## Pendahuluan

Jenis ternak perah yang dibudidayakan untuk produksi susu adalah kambing, domba (ruminansia kecil) serta sapi dan kerbau (ruminansia besar) (Bergonier *et al.*, 2003). Kambing saat ini banyak dibudidayakan sebagai ternak perah di Indonesia dan sangat berpotensi dalam peningkatan pendapatan masyarakat (Balitbangtan, 2020). Jenis kambing perah unggul yang mulai dibudidayakan di Indonesia adalah kambing Peranakan Etawah, kambing Saanen, dan kambing Sapera atau Basari (merupakan persilangan antara kambing Saanen dengan kambing PE) (Anonim, 2020). Potensi besar peternakan kambing perah salah satunya adalah berkaitan dengan harga jual susu kambing segar yang tinggi, yaitu sekitar Rp 7,000,- per 200 mL atau Rp 30,000,- sampai dengan Rp 50,000,- per liter (Aji, 2020; Ridlo, 2020) sehingga dapat meningkatkan kesejahteraan peternak kambing perah (Ridlo, 2020).

Menurut Standar Nasional Indonesia (2011), susu segar merupakan cairan yang berasal dari ambing ternak perah yang sehat, diperoleh dengan metode pemerahan yang benar, dan masih memiliki kandungan alami yang utuh tanpa penambahan suatu bahan apapun, serta belum mendapatkan perlakuan apapun selain pendinginan. Salah satu potensi bahaya yang terdapat di dalam susu maupun produk olahannya adalah adanya kontaminasi bakteri (bahaya mikrobiologis), terutama oleh bakteri patogen (Owusu-Kwarteng *et al.*, 2020) yang salah satunya disebabkan adanya kasus mastitis pada ternak perah.

Mastitis merupakan radang pada *glandula mammae* yang disebabkan oleh infeksi patogen (Ruegg, 2017). Tipe mastitis subklinis (tanpa gejala) sering ditemukan pada ternak perah kambing perah dengan jumlah sel somatic (JSS)  $\geq 500 \times 10^3$  cells/ml (Kiossis *et al.*, 2007; Rupp *et al.*, 2019) dan JSS ini lebih tinggi pada kambing dibandingkan sapi maupun domba (Rupp *et al.*, 2019). Patogen yang ditemukan pada kasus mastitis ruminansia kecil sebagian besar disebabkan oleh kelompok bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*,

*Enterobacteriaceae*) (Zadoks *et al.*, 2011) dan Gram negatif (*Klebsiella pneumoniae* (Artdita *et al.*, 2018), *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella varicola* dan kelompok *Coliforms* seperti *Escherichia coli*) (Munoz *et al.*, 2008; Zadoks *et al.*, 2011).

Kasus mastitis pada kambing perah yang paling sering terjadi adalah kejadian mastitis subklinis dengan prevalensi sekitar 15-40% (Contreras, 2007; Kiossis *et al.*, 2007; Omar and Mat-Kamir, 2018). Kondisi mastitis subklinis ditandai dengan adanya peningkatan jumlah sel somatik (JSS) dalam susu dimana kondisi ini dapat digunakan sebagai deteksi awal kejadian mastitis dengan menggunakan reagen *california mastitis test* (CMT). Status kambing positif mastitis adalah apabila hasil uji CMT menunjukkan positif 2 (++) atau positif 3 (+++), selanjutnya status mastitis ini diteguhkan dengan pengujian laboratoris berupa pemeriksaan bakteri patogen yang mengontaminasi susu mastitis tersebut (McDougall *et al.*, 2002; Persson and Olofsson, 2011). Salah satu metode identifikasi molekuler patogen penyebab mastitis adalah metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Zadoks and Watts, 2009; Wyder *et al.*, 2011). Boss *et al.* (2011) dan Hiitiö *et al.*, (2015) juga telah mengembangkan metode identifikasi molekuler ini dengan metode *real time quantitative* PCR. Metode PCR memiliki sensitivitas dan spesivitas yang tinggi. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi bakteri *Staphylococcus sp.* dan *Staphylococcus aureus* penyebab mastitis subklinis pada kambing perah dengan menggunakan metode PCR.

## Materi dan Metode

### Isolat bakteri

Sebanyak 26 isolat bakteri Gram positif diperoleh dari gabungan sampel penelitian sebelumnya (Artdita *et al.*, 2020<sup>a</sup>) dan sampel lain dari susu kambing perah jenis PE, Sapera, dan Saanen yang mengalami mastitis subklinis. Isolat bakteri tersebut diambil dari gabungan sampel susu segar kambing perah yang berasal dari Kokap (Kulonprogo) dan Turi (Sleman), Daerah Istimewa Yogyakarta. Isolat bakteri yang digunakan ini telah dilakukan identifikasi mikrobiologi (uji biokimiawi) meliputi

kemampuan tumbuh pada media mannitol salt agar (MSA), positif uji katalase dan koagulase, dan pada pewarnaan Gram sel berwarna ungu dengan bentuk sel adalah *coccus*. Kontrol positif *Staphylococcus aureus* menggunakan isolat dengan kode *American Type Culture Cell* (ATCC) 25923 milik Balai Besar Veteriner Kementerian Pertanian Republik Indonesia dan isolat *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dengan kode MRSA 1629 yang diperoleh dari Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada sebagai kontrol positif gen penyandi resistensi terhadap antibiotik *Methycillin*.

### Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA bakteri dilakukan sesuai protokol Gsync DNA *Extraction Kit* (Geneaid®) dengan modifikasi pada preparasi sampel. Sebanyak 1 mL isolat dari media *Todd-Hewitt Broth* (THB) yang telah diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam, disentrifugasi 13.000 RPM selama 5 menit. Supernatan dibuang dan ditambahkan 200 µL Gram+ buffer (yang telah ditambahkan 25 µL Lysozyme (0.8 mg *final concentration*)), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit hingga 2 jam. *Proteinase-K* (20 mg/ml) ditambahkan sebanyak 20 µL, di vortex dan diinkubasi pada suhu 55°C selama 2-12 jam (*overnight*). Campuran kemudian disentrifugasi (*mode pulse*), supernatan dipindahkan ke *tube* 1,5 mL steril,

ditambahkan 200 µL GB *buffer* dan divortex, lalu diinkubasi pada suhu 70°C selama 10-30 menit, dan divortex tiap 3 menit. Selanjutnya sampel ditambahkan 200 µL ethanol absolut (dingin), lalu divortex dan disentrifugasi *mode pulse*. Seluruh larutan campuran dipindah ke dalam GS *column*, kemudian disentrifugasi 12.000 rpm selama 1 menit. Kontaminan DNA dicuci menggunakan 400 µL W1 *buffer* dan 600 µL *wash buffer*, disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 1 menit. Sebelum proses elusi DNA, GS *column* disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 3 menit, kemudian DNA di elusi dengan 100 µL *elution buffer* dengan kecepatan 12.000 rpm selama 1 menit. Sampel DNA kemudian disimpan pada *freezer* -20°C.

### Amplifikasi gen spesifik

Identifikasi molekuler gen spesifik *23s rRNA Staphylococcus sp.*, *23s rRNA S.aureus*, dan *mecA* dilakukan dengan metode PCR menggunakan primer dan program pada tabel 1. Campuran PCR sebanyak 25 µl terdiri atas 2 µl primer 1 (10 pmol/µl) (IDT®), 2 µl primer 2 (10 pmol/µl) (IDT®), 12,5 µl PCR mix (SMOBIO®), 6,5 µl ddH<sub>2</sub>O *molecular grade* 2 (SIGMA ALDRICH®) dan 2 µl sampel DNA. Campuran kemudian disentrifugasi selama beberapa detik dan dimasukkan ke dalam mesin *thermal cycler* (Eppendorf®). Amplikon dielektroforesis pada agarose 2% dan 2 µl DNA *staining* (1st

Tabel 1. Sekuens primer yang digunakan untuk proses amplifikasi gen *Staphylococcus sp.* dan *Staphylococcus aureus*.

Target gen (amplikon)	Sekuens primer	Suhu <i>annealing</i>	Program PCR*	Referensi
<i>23s rRNA Staphylococcus sp.</i> (499 bp)	5' AGC TGT GGA TTG TCC TTT GG 3' 3' TCG CTC GCT CAC CTT AGA AT 5'	56°C	1	Cremonesi <i>et al.</i> , 2005
<i>23s rRNA Staphylococcus aureus</i> (1250 bp)	5' ACG GAG TTA CAA AGG ACG AC 3' 3' AGC TCA GCC TTA ACG AGT AC 5'	64°C	2	Straub <i>et al.</i> , 1999
<i>mecA</i> (532 bp)	5' AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC 3' 3' AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC 5'	55°C	3	Strommenger <i>et al.</i> , 2003

\* Program PCR:

Pre-denaturasi: 94°C 120 detik, denaturasi: 94°C 30 detik, *annealing* : 56°C 30 detik, elongasi : 72°C 20 detik, final elongasi: 72°C 7 menit (30 siklus)

Pre-denaturasi: 94°C 120 detik, denaturasi: 94°C 30 detik, *annealing* : 64°C 30 detik, elongasi : 72°C 45 detik, final elongasi: 72°C 7 menit (35 siklus)

Pre-denaturasi: 94°C 120 detik, denaturasi: 94°C 30 detik, *annealing* : 55°C 30 detik, elongasi : 72°C 30 detik, final elongasi: 72°C 7 menit (35 siklus)

BASE<sup>®</sup>), selanjutnya divisualisasi dengan *UV-transluminator*, dibandingkan dengan kontrol +, kontrol -, dan penanda (*marker* atau *ladder*) 100 bp *DNA Ladder* (Geneaid<sup>®</sup>) atau 1 kb *DNA Ladder* (HyperLadder<sup>®</sup>).

## Hasil dan Pembahasan

Standar diagnosa terhadap kejadian mastitis pada ternak perah ruminansia kecil adalah pemeriksaan bakteriologi dari susu yang dihasilkan ternak perah tersebut. Hasil pemeriksaan fenotipik dari sampel susu mastitis tersaji ada Tabel 2. Sebanyak 18 isolat bakteri asal Kokap, Kulonprogo menggunakan data hasil penelitian sebelumnya (Artdita et al., 2020<sup>a</sup>) dan 8 isolat bakteri diperoleh dari susu kambing perah dengan kondisi mastitis yang diambil dari peternakan kambing perah di Turi, Sleman.

Kasus mastitis oleh infeksi bakteri pada kambing perah biasanya terjadi karena proses pemerahan yang kurang memperhatikan kebersihan, hal tersebut merupakan kondisi potensial transmisi bakteri Gram positif, khususnya genus *Staphylococcus* (Olechnowicz and Jaśkowski, 2014). Penelitian sebelumnya (Artdita et al., 2020<sup>a</sup>), memberikan hasil deteksi bakteri menggunakan metode uji biokimiawi (berdasarkan fenotipe) (Tabel 2). Pada penelitian tersebut, diperoleh hasil bahwa isolat bakteri tersebut termasuk ke dalam genus *Staphylococcus*. Genus ini merupakan kelompok bakteri Gram positif dengan bentuk sel adalah coccus dan dapat tumbuh pada media MSA yang memiliki kadar garam 7,5% dengan komponen utama adalah mannitol (Olechnowicz and Jaśkowski, 2014). Beberapa isolat tersebut juga menunjukkan morfologi koloni putih

kekuningan dengan atau tanpa memiliki kemampuan menghemolisa darah domba pada plat agar darah (PAD), memberikan hasil positif pada uji katalase, sedangkan pada uji koagulase memberikan hasil positif dan negatif pada beberapa isolat. Hasil dari 26 isolat bakteri Gram positif diperoleh dari gabungan sampel penelitian sebelumnya (Artdita et al., 2020<sup>a</sup>) dan sampel lain dari susu kambing perah jenis PE, Sapera, dan Saanen yang tumbuh pada media mannitol salt agar (MSA), positif uji katalase dan koagulase, serta bentuk sel adalah *coccus* tersebut mengarah pada genus *Staphylococcus* (Quinn et al., 2004; Forbes et al., 2007; Todar, 2008). Meskipun hasil uji mikrobiologi menunjukkan ciri umum *Staphylococcus sp.* atau spesies tertentu, namun peneguhan identifikasi molekuler *Staphylococcus sp.* dan *Staphylococcus aureus* penyebab mastitis dari isolat bakteri Gram positif tersebut perlu dilakukan. Hal ini dikarenakan adanya kesamaan karakter fenotipe bakteri sehingga sangat sulit menentukan spesiesnya. Oleh karena itu, perlu adanya suatu metode deteksi yang digunakan untuk menentukan tingkat spesies (*genotyping*) dengan metode identifikasi dengan menggunakan PCR (Zadoks and Watts, 2009; Wyder et al., 2011).

Metode ekstraksi DNA yang digunakan adalah *spin column system*. Dash et al. (2020) menjelaskan bahwa pemilihan metode ekstraksi ini memberikan keuntungan dari sisi kualitas DNA yang dihasilkan dan praktis. Tahapan metode ini meliputi tahapan lisis, DNA *binding*, pencucian, dan elusi. Selama tahap lisis, sel akan lisis dan mengeluarkan asam nukleat ke cairan reagen (Quigley et al., 2012; Dash et al., 2020). Enzim, seperti proteinase-K dan lysozyme (Parayre et al. 2007), dapat melisiskan sel bakteri

Tabel 2. Asal sampel isolat yang digunakan dalam pengujian genotipik

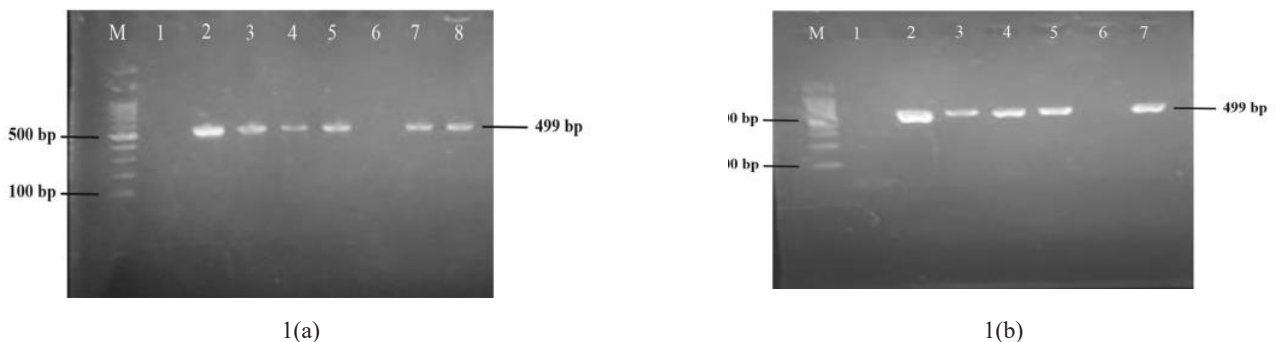
Asal sampel awal	Jumlah Isolat	Pewarnaan Gram	MSA	Uji Katalase	Uji Koagulase
Kokap, Kulon Progo*	10	Ungu, bentuk sel coccus	+, <i>fermented</i>	+	+
Kokap, Kulon Progo*	8	Ungu, bentuk sel coccus	+, <i>non-fermented</i>	+	-
Turi, Sleman	8	Ungu, bentuk sel coccus	+, <i>non-fermented</i>	+	-

\*Artdita et al., 2020<sup>a</sup>

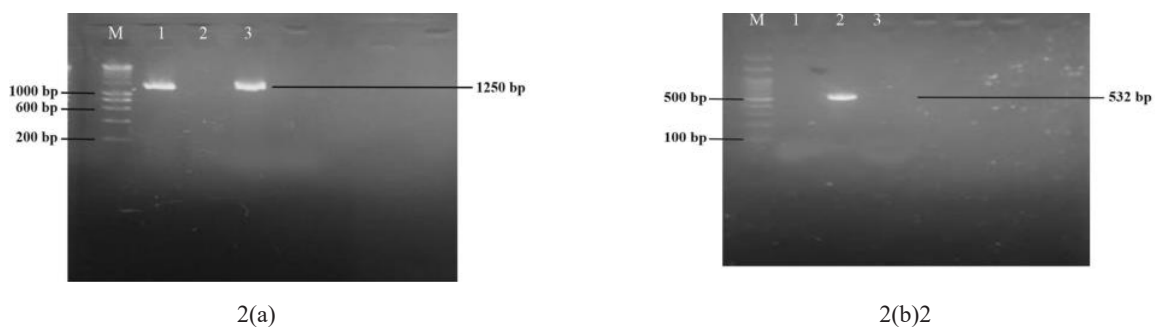
Gram positif (Quigley *et al.*, 2012). Pada tahap DNA *binding*, adanya reagen DNA *binding* (ethanol), pH yang optimal dan sentrifugasi, maka DNA akan “terikat” di membran silika yang ada pada *spin column* (Dash *et al.*, 2020). Komponen utama membran silika adalah diethylaminoethanol (DEAE) dan silika ini bekerja seperti prinsip afinitas kromatografi, dengan pH yang cocok, penambahan ion H<sup>+</sup> pada *column*, dan sentrifugasi, maka silika akan menjadi bermuatan positif. Hal ini menyebabkan DNA yang bermuatan negatif dapat “terikat” di membran silika, sedangkan debris-debris yang lain akan melewati membran silika pada saat tahap pencucian dilakukan (Pirondini *et al.*, 2010; Dash *et al.*, 2020). Pada tahap elusi, *buffer* elusi akan meluruhkan DNA yang “terikat” di membran silika agar berpindah ke *tube* yang terpasang di bawah *spin column* (Dash *et al.*, 2020).

Identifikasi dengan metode PCR dilakukan dengan tahapan: identifikasi *Staphylococcus sp.* dan *Staphylococcus aureus*. Sampel yang ter-

identifikasi *Staphylococcus aureus* akan dilanjutkan dengan identifikasi bakteri yang resisten terhadap Methicillin (MRSA) dengan target gen *mecA*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dari 26 sampel isolat bakteri Gram positif, teridentifikasi 12 isolat *Staphylococcus sp.* dan 1 isolat *Staphylococcus aureus*. Target gen yang digunakan pada penelitian ini adalah *23s rRNA*. Gen *23s rRNA* merupakan *conserved region* (urutan basa nukleotida pada 23S rRNA sangat identik dan spesifik) sehingga dapat digunakan untuk identifikasi genus maupun spesies (Dorris *et al.*, 2015). Identifikasi *Staphylococcus sp.* mengacu pada Cremonesi *et al.* (2005) dengan panjang amplicon 499 bp, sedangkan untuk *Staphylococcus aureus* mengacu pada Straub *et al.* (1999) dengan panjang amplicon 1250 bp. Hasil *band* yang muncul selanjutnya diamati ukurannya terhadap ladder yang digunakan (untuk *Staphylococcus sp.* menggunakan *ladder* 100 bp dan untuk *Staphylococcus aureus* menggunakan *ladder* 1.000 bp) dan dibandingkan dengan kontrol positif. Sampel yang teridentifikasi



Gambar 1. Hasil elektroforesis DNA terhadap gen *23s rRNA* (*Staphylococcus sp.*) dengan ukuran amplicon 499 bp menggunakan gel agarose (Ket. 2(a): M: Marker/Ladder; 1:Kontrol -; 2: Kontrol +; sumuran 3-8: sampel (sumuran 3,4,5,7,8 muncul *band* pada ukuran 499bp dan sumuran 6 tidak muncul *band*); 2(b): M: Marker/Ladder; 1:Kontrol -; 2: Kontrol +; sumuran 3-8: sampel (sumuran 3,4,5,7 muncul *band* pada ukuran 499bp dan sumuran 6 tidak muncul *band*).



Gambar 2 (a). Hasil elektroforesis DNA terhadap gen *23s rRNA* (*Staphylococcus aureus*) dengan ukuran amplicon 1.250 bp menggunakan gel agarose (Ket. M: Marker/Ladder; 1:Kontrol +; 2: Kontrol -; 3: sampel yang muncul *band*); 3(b). Hasil elektroforesis DNA MRSA dengan ukuran amplicon 532 bp menggunakan gel agarose (Ket. M: Marker/Ladder; 1:Kontrol -; 2: Kontrol +; 3: sampel yang tidak muncul *band*).

kasi *Staphylococcus aureus*, dilanjutkan dengan deteksi terhadap gen *mecA*. Gen ini merupakan gen spesifik spesies *Staphylococcus aureus* yang termasuk ke dalam golongan MRSA (Cremonesi et al., 2005).

Hasil elektroforesis DNA *Staphylococcus sp.* (Gambar 1) menunjukkan bahwa sampel terdeteksi sebagai *Staphylococcus sp.* (sumuran no 3, 4, 5, 7, 8 pada Gambar 1(a) dan sumuran no 3, 4, 5, 7 pada Gambar 1(b)) dengan ukuran produk PCR 499 bp (Cremonesi et al., 2005) dibandingkan dengan kontrol positif ATCC (sumuran no 2). Windria et al. (2016) dan Aziz et al. (2020) menggunakan desain primer Cremonesi et al. (2005) untuk mendeteksi keberadaan gen 23s rRNA *Staphylococcus sp.* dari sampel susu kambing PE. Berdasar Gambar 2(a) diketahui bahwa terdapat 1 sampel merupakan *Staphylococcus aureus* dan tidak termasuk ke dalam golongan MRSA (Gambar 2b). Contreras et al., (2007) dan Viridis et al. (2010) menyebutkan bahwa beberapa patogen bertanggung jawab terhadap adanya infeksi mastitis pada ruminansia kecil, namun *Staphylococcus sp.* merupakan patogen yang paling banyak dijumpai pada kasus mastitis pada ruminansia kecil. Senada dengan Contreras et al., (2007) dan Viridis et al. (2010), Aziz et al. (2020) menyebutkan bahwa *Staphylococcus sp.* juga mendominasi hingga 61% kejadian mastitis kambing Peranakan Etawah dan *Staphylococcus aureus* hanya sekitar 1.6%. Zhao et al. (2015) menyebutkan kejadian mastitis subkinis di peternakan kambing di China, didominasi oleh *coagulase-negative staphylococci* (CNS) (59,52%) sedangkan infeksi akibat *Staphylococcus aureus* hanya sebesar 15,24%. Kasus mastitis pada peternakan ruminansia kecil paling banyak disebabkan oleh CNS yang menyebabkan penurunan produksi susu (Silva et al., 2004; Leitner et al., 2008; Ozenc et al., 2011). Prevalensi kejadian mastitis subklinis pada kambing perah dikarenakan infeksi CNS adalah 60% sampai dengan 80.7% (McDougall et al., 2002; Silva et al., 2004; Hall and Rycroft, 2007), sedangkan pada domba perah adalah 45-48% (Spanu et al., 2011).

*Staphylococcus aureus* dapat diinokulasi dari sampel susu ternak perah ruminansia kecil yang mengalami kasus mastitis subklinis (Mishra et al., 2014). Kejadian mastitis akibat

*Staphylococcus aureus* ini mampu menginduksi produksi sel somatik yang jauh lebih tinggi daripada infeksi yang disebabkan oleh CNS. Hal tersebut menjadi pertimbangan bahwa *Staphylococcus aureus* sebagai salah satu patogen utama penyebab kejadian mastitis pada ruminansia kecil (McDougall et al., 2002; Contreras et al., 2007; Mishra et al., 2014). Contreras et al. (2007) dan Reinard et al. (2018) menyebutkan bahwa banyak kasus mastitis yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan tipe mastitis klinis. Lebih lanjut, infeksi akibat *Staphylococcus aureus* ini juga tidak jarang hingga menyebabkan kondisi *gangrene* pada ambing ternak (Reinard et al., 2018). Patogen lain yang berperan sebagai penyebab mastitis pada ruminansia kecil selain dari genus *Staphylococcus* adalah *Streptococcus sp.*, *Enterobacteriaceae*, *Mannheimia haemolytica* (Bergonier and Berthelot, 2003; Bergonier et al., 2003; Contreras et al., 2007; Mishra et al., 2018), *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacteria* (Bergonier and Berthelot, 2003; Contreras et al., 2007), *Bacillus spp.*, *Arcanobacterium pyogenes* (Mishra et al., 2018), dan fungi (*Aspergillus fumigatus*) dengan tingkat kejadiannya rendah (Bergonier and Berthelot, 2003; Contreras et al., 2007).

Proses pemerahan menjadi proses yang penting karena dapat menyebabkan terjadinya infeksi pada ambing ruminansia kecil, khususnya infeksi dari genus *Staphylococcus* (Bergonier and Berthelot, 2003; Olechnowicz and Jaśkowski, 2014). Pencegahan mastitis pada kambing perah dapat dilakukan dengan cara pemerahan yang rutin dan aseptis, salah satunya dengan penerapan *teat dipping* setelah pemerahan (Indarwati et al., 2015), baik dengan metode *sprayer* (Artdita et al., 2020<sup>b</sup>) maupun pencelupan (Priono et al., 2016). Oleh karena itu, peternak kambing perah perlu diberikan edukasi dan pendampingan agar memahami pentingnya *good dairy farming practices* (GDFP), salah satunya adalah dengan *teat dipping* setelah dilakukan pemerahan (Indarwati et al., 2015; Artdita et al., 2020<sup>b</sup>).

## Kesimpulan

Identifikasi molekuler isolat bakteri penyebab mastitis subklinis pada kambing perah

adalah sebanyak 12 isolat bakteri merupakan *Staphylococcus sp.* dan 1 isolat merupakan *Staphylococcus aureus*. Bakteri yang teridentifikasi *Staphylococcus aureus* ini bukan termasuk MRSA.

#### Daftar Pustaka

- Aji, D.U. (2020). *Tingkatkan Imun, Susu Kambing di Kudus Laris Manis Diserbu Pembeli*. <https://news.detik.com/berita-jawa-tengah/d-5166102/tingkatkan-imun-susu-kambing-di-kudus-laris-manis-diserbu-pembeli> (accessed : 12 Oktober 2020)
- Anonim. (2020). *Jenis-Jenis Kambing Perah Unggul*. <https://www.pertanianku.com/jenis-jenis-kambing-perah-unggul/#:~:text=Pertanianku%20%E2%80%94%20Agar%20menghasilkan%20susu%20kambing,3%20jenis%20kambing%20perah%20tersebut.> (accessed : 05 Oktober 2020)
- Artdita, C.A., Andityas, M., Prihanani, N.I., and Budiyanto, Y.W. (2020<sup>a</sup>). Deteksi Bakteri Penyebab Mastitis Subklinis pada Kambing Peranakan Etawah di Kokap, Kulon Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*. 38(1):37-44.
- Artdita, C.A., Andityas, M., Martien, R., Setyaningrum, MAE., and Fauzi, A. (2020<sup>b</sup>). Pendampingan Kegiatan Dipping Puting pada Ternak Kambing Perah di Desa Turgo, Turi, Sleman, Yogyakarta. *Sarwahita: Jurnal Pengabdian kepada Masyarakat*. 17:1-7.
- Artdita, C.A., Lestari, F.B., Fauzi, A., Tanzila, E.P.A., (2018). *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Subclinical Mastitis Milk of Etawah Crossbreed Goat. *Jurnal Sain Veteriner*. 36(2):238-245.
- Aziz, F., Lestari, B.L., Nuraida S., Purwati, E., and Salasia, S.I.O. (2020). Deteksi *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus sp.* secara Langsung dari Susu Segar Kambing Peranakan Etawa dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Jurnal Sain Veteriner*. 38(2):168-174.
- Badan Standardisasi Nasional [BSN]. (2011). *Susu Segar Bagian 1: Sapi*. SNI 01-3141-2011. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Bergonier D., de Crémoux R., Rupp R., Lagriffoul G., and Berthelot X. (2003). Mastitis of dairy small ruminants. *Vet. Res.* 34:689-716.
- Boss, R., Naskova, J., Steiner, A., and Graber, H.U. (2011). Mastitis diagnostics: Quantitative PCR for *Staphylococcus aureus* genotype B in bulk tank milk. *Journal of Dairy Science*. 94(1):128-137.
- Contreras, A., Sierra, D., Sánchez, A., Corrales, J.C., Marco, J.C., Paape, M.J. and Gonzalo, C. (2007). Mastitis in small ruminants. *Small Ruminant Research*. 68:145–15.
- Cremonesi, P., Luzzana, M., Brasca, M., Morandi, S., Lodi, R., Vimercati, C., and Castiglioni, B. (2005). Development of a multiplex PCR assay for the identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxigenic strains isolated from milk and dairy products. *Molecular and cellular probes*. 19(5): 299-305.
- Dash, H. R., Shrivastava, P., and Das, S. (2020). *Isolation of DNA by Using Column-Based Extraction System. In Principles and Practices of DNA Analysis: A Laboratory Manual for Forensic DNA Typing*. Humana, New York, NY.
- Doris, S.M., Smith, D.R., Beamesderfer, J.N., Raphael B.J., Nathanson, J.A., and Gerbi, S.A. (2015). Universal and domain-specific sequences in 23S–28S ribosomal RNA identified by computational phylogenetics. *RNA*. 21(10): 1719–1730.
- Forbes, BA., Shamm, DF., and Weisffeld, AS. (2007). *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. 12<sup>th</sup> edition. USA: Mosby.
- Hall, S.M. and Rycroft, A.N. (2007). Causative organisms and somatic cell counts in subclinical intramammary infections in milking goats in the UK. *Vet Rec*. 160 (1) : 19-22.

- Hiitiö, H., Riva, R., Autio, T., Pohjanvirta, T., Holopainen, J., Pyörälä, S., and Pelkonen, S. (2015). Performance of a real-time PCR assay in routine bovine mastitis diagnostics compared with in-depth conventional culture. *Journal of Dairy Research*. 82(02):1-9.
- Indarwati, R., Herawati, and Arisoelaningsih, E. (2015). Strategic planning to develop good dairy farming practices in Smallholder Dairy Farms in Batu City, East Java. *J-PAL*. 6(2):163-170.
- Kioassis, E., Brozos, C. N., Petridou, E., and Boscos, C. (2007). Program for the control of subclinical mastitis in dairy Chios breed ewes during lactation. *Small Ruminant Res*. 73:194-199.
- Leitner, G., Silanikove, N., and Merin, U. (2008). Estimate of milk and curd yield loss of sheep and goats with intramammary infection and its relation to somatic cell count. *Small Ruminant Res*. 74:221-225.
- McDougall, S., Pankey, W., Delaney, C., Barlow, J., Murdough, P.A., and Scruton, D. (2002). Prevalence and incidence of subclinical mastitis in goats and dairy ewes in Vermont USA. *Small Rumin Res*. 46(2-3) : 115-121.
- Mishra, AK., Sharma, N., Kumar, A., Kumar, N., Gundallahalli, BMR., Kumar, S., and Kumar, V. (2014). Isolation, characterization and therapeutic potential assessment of bacteriophages virulent to *Staphylococcus aureus* associated with goat mastitis. *Iran. J. Vet. Res*. 15(4):320–325.
- Mishra, AK., Sharma, N., Singh, DD., Gururaj, K., Abhishek, Kumar, V., Sharma, DK. (2018) Prevalence and bacterial etiology of subclinical mastitis in goats reared in organized farms, *Veterinary World*, 11(1): 20-24.
- Munoz, M.A., Bennett, G.J., Ahlström, C., Griffiths, H.M., Schukken, Y.H., and Zadoks, R.N. (2008). Cleanliness scores as indicator of *Klebsiella* exposure in dairy cows. *J Dairy Sci*. 91(10):3908–16.
- Olechnowicz, J. and Jaśkowski, J.M. (2014). Mastitis in Small Ruminant. *Med. Weter*. 70(2):67-72.
- Omar, S. and Mat-Kamir, N.F., (2018). Isolation and identification of common bacteria causing subclinical mastitis in dairy goats. *Int. Food Res. J*. 25(4):1668–1674.
- Owusu-Kwarteng, J., Akabanda, F., Agyei, D., and Jespersen, L. (2020). Microbial Safety of Milk Production and Fermented Dairy Products in Africa. *Microorganism*. 8(752):1-24.
- Ozenc, E., Seker, E., Baki Acar, D., Birdane, M. K., Darbaz, I., and Dogan, N. (2011). The importance of Staphylococci and threshold value of somatic cell count for diagnosis of sub-clinical mastitis in Pirlak sheep at mid-lactation. *Reprod. Dom. Anim*. 46:970-974.
- Parayre, S., Falentin, H., Madec, M.N., Sivieri, K., Le Dizes, A.S., Sohier, D. and Lortal, S. (2007). Easy DNA extraction method and optimisation of PCR-Temporal Temperature Gel Electrophoresis to identify the predominant high and low GC-content bacteria from dairy products. *J Microbiol Methods*. 69, 431–441.
- Persson, Y. and Olofsson, I. (2011). Direct and indirect measurement of somatic cell count as indicator of intramammary infection in dairy goats. *Acta Vet Scand*. 53(15) : 1-5.
- Pirondini, A., Bonas, U., Maestri, E., Visioli, G., Marmioli, M. and Marmioli, N. (2010). Yield and amplificability of different DNA extraction procedures for traceability in the dairy food chain. *Food Control*. 21, 663–668.
- Priono, D., Kusumanti, E., and Harjanti, DW. (2016). Jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* dan skor California Mastitis Test (CMT) pada susu kambing Peranakan Etawa akibat *dipping* ekstrak daun Babadotan (*Ageratum conyzoides L.*) *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 26(1):52-57.
- Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan Kementerian Pertanian (Balitbangtan).



- (2020). *Kambing Perah Indonesia, Kambing Peranakan Etawah*. <http://www.litbang.pertanian.go.id/info-teknologi/3979/> (accessed: 05 Oktober 2020).
- Quigley, L., O’Sullivan, O., Beresford, TP., Paul Ross, R., Fitzgerald, GF., and Cotter, PD. (2012). A comparison of methods used to extract bacterial DNA from raw milk and raw milk cheese. *Journal of Applied Microbiology*. 113:96-105.
- Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B., dan Carter, G.R. (2004). *Clinical Veterinary Microbiology*. USA, Mosby.
- Rainard, P., Gitton, C., Chaumeil, T., Fassier, T., Huau, C., Riou, M., Tosser-Klopp, G., Krupova, Z., Chaize, A., Gilbert, FB., Rupp, R., and Martin, P. (2018). Host factors determine the evolution of infection with *Staphylococcus aureus* to gangrenous mastitis in goats. *Vet Res*. 49:72.
- Ridlo, M. (2020). *Mereguk Susu Kambing Pegunungan Cilacap di Pagi hari Segar Menyehatkan*. <https://www.liputan6.com/regional/read/4297187/mereguk-susu-kambing-pegunungan-cilacap-di-pagi-hari-segar-menyehatkan> (accessed : 12 Oktober 2020).
- Ruegg, PL. (2017). A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. *J Dairy Sci*. 100(12):10381-10397.
- Rupp, R., Huau, C., Caillat, H., Fassier, T., Bouvier, F., Pampouille, E., Clément, V., Palhière, I., Larroque, H., G.Tosser-Klopp, G., Jacquet, P., and Rainard, P. (2019). Divergent selection on milk somatic cell count in goats improves udder health and milk quality with no effect on nematode resistance. *Journal of Dairy Science*. 102(6): 5242-5253.
- Silva, E. R. da, Siqueira, A. P., Dias, Martins J. C., Barbosa, Ferreira, W. P., and da Silva N. (2004). Identification and in vitro antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* species isolated from goat mastitis in the Northeast of Brazil. *Small Ruminant Res*. 55:45-49.
- Spanu C., Bergerb Y. M., Thomasc D. L., and Ruegg P. L. (2011). Impact of intramammary antimicrobial dry treatment and teat sanitation on somatic cell count and intramammary infection in dairy ewes. *Small Ruminant Res*. 97:139-145.
- Straub, J. A., Hertel, C. and Hammes, W. P. (1999). A *23S rRNA*-Targeted Polymerase Chain Reaction-Based System for Detection of *Staphylococcus aureus* in Meat Starter Cultures and Dairy Products. *J. Food Prot*. 62 (10):1150–1156.
- Strommenger, B., Kettlitz, C., Werner, G., and Witte, W. (2003). Multiplex PCR assay for simultaneous detection of nine clinically relevant antibiotic resistance genes in *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol*. 41(9):4089-4094.
- Todar, K. (2008). *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcal* Disease; Todar’s Online Textbook of Bacteriology. [www.textbookofbacteriology.net](http://www.textbookofbacteriology.net).
- Viridis, S., Scarano, C., Cossu, F., Spanu, V., Spanu, C., and de Santis, EPL. (2010) Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase negative *Staphylococci* isolated from goats with subclinical mastitis. *Vet. Med. Int*. 2010:517060.
- Windria, S., Widianingrum, D. C., & Salasia, S. I. O. (2016). Identification of *Staphylococcus aureus* and Coagulase Negative *Staphylococci* Isolates from Mastitis Milk of Etawa Crossbred Goat. *Research Journal of Microbiology*. 11(1): 11.
- Wyder, A.B., Boss, R., Naskova, J., Kaufmann, T., Steiner, A., and Graber, H.U. (2011). *Streptococcus sp* and related bacteria: their identification and their pathogenic potential for chronic mastitis – a molecular approach. *Res. Vet. Sci*. 91(3): 349-357.
- 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.

Zadoks, R.N. and Watts, J.L. (2009). *Species identification of coagulase-negative staphylococci: genotyping is superior to phenotyping. Vet Microbiol.* 134(1-2): 20-28.

Zhao, Y., Liu, H., Zhao, X., Gao, Y., Zhang, M., dan Chen, D. (2015). Prevalence and pathogens of subclinical mastitis in dairy goats in China. *Trop Anim Health Prod.* 47:429–435.