

## BAB. IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil isolasi bakteri *Escherichia coli*

Hasil dari pengambilan sampel bakteri *Escherichia coli* dari sampel air susu sapi perah mastitis di daerah Boyolali dilakukan terhadap 20 sampel air susu sapi yang memiliki diagnosis awal yang mengarah pada mastitis seperti penurunan produksi air susu, air susu menggumpal, dan ambing bengkak.

Isolasi bakteri *Escherichia coli* dari air susu sapi perah mastitis di daerah Boyolali menggunakan media Endo Agar (EA). Sampel air susu sapi perah mastitis kemudian dibiakkan pada medium Endo Agar (EA) dengan cara digoreskan menggunakan jarum ose secara merata. Pemeriksaan fisik pada media Endo Agar (EA) dilakukan setelah mengisolasi bakteri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.



**Gambar 1. Koloni yang diduga *Escherichia coli* hasil isolasi air susu sapi perah mastitis di Boyolali yang tumbuh pada media Endo Agar (EA)**

Hasil positif *Escherichia coli* jika menunjukkan ciri-ciri koloni berwarna merah dengan kilap logam yang permanen dan warna medium merah violet. Warna ini dikarenakan bakteri memetabolisme laktosa menjadi aldehid dan asam sehingga aldehid yang terbentuk bereaksi dengan fuschin yang merupakan salah satu bahan untuk membuat media Endo Agar (EA). Koloni yang diduga bakteri *Escherichia coli* pada media Endo Agar (EA) dapat dilihat seperti dalam gambar 1. Hasil isolasi selengkapnya dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1. Hasil inokulasi bakteri yang diduga *Escherichia coli* hasil isolasi air susu sapi perah mastitis di Boyolali pada media Endo Agar (EA)**

No. Sampel	Bentuk koloni	Dugaan sementara
1	Koloni merah mengkilap logam	<i>Escherichia coli</i>
2	Koloni merah muda tidak kilap logam	Negatif <i>Escherichia coli</i>
3	Koloni merah muda tidak kilap logam	Negatif <i>Escherichia coli</i>
4	Koloni merah mengkilap logam	<i>Escherichia coli</i>
5	Koloni merah mengkilap logam	<i>Escherichia coli</i>
6	Koloni merah mengkilap logam	<i>Escherichia coli</i>
7	Koloni merah mengkilap logam	<i>Escherichia coli</i>
8	Koloni merah mengkilap logam	<i>Escherichia coli</i>
9	Koloni merah mengkilap logam	<i>Escherichia coli</i>
10	Koloni merah mengkilap logam	<i>Escherichia coli</i>
11	Koloni merah mengkilap logam	<i>Escherichia coli</i>
12	Koloni merah mengkilap logam	<i>Escherichia coli</i>
13	Koloni merah mengkilap logam	<i>Escherichia coli</i>
14	Koloni merah mengkilap logam	<i>Escherichia coli</i>
15	Koloni merah mengkilap logam	<i>Escherichia coli</i>
16	Koloni merah mengkilap logam	<i>Escherichia coli</i>
17	Koloni merah mengkilap logam	<i>Escherichia coli</i>
18	Koloni merah mengkilap logam	<i>Escherichia coli</i>
19	Koloni merah mengkilap logam	<i>Escherichia coli</i>
20	Koloni merah mengkilap logam	<i>Escherichia coli</i>

Data hasil inokulasi sampel air susu sapi perah mastitis di daerah Boyolali dalam media Endo Agar (EA) menunjukkan 2 sampel dari 20 sampel air susu sapi perah mastitis negatif mengandung bakteri *Escherichia coli* yang ditunjukkan dengan tidak adanya koloni tersangka bakteri *Escherichia coli*. Hal ini dapat disebabkan karena mastitis pada sapi perah tidak hanya disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* saja, tetapi dapat disebabkan oleh bakteri lain misalnya disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysagalactiae*, *Escheria feundii*, *Aerobacter aerugenes* dan *Klebsiella pneumonia*. Koloni yang terbentuk dari 2 sampel yang negatif mengandung bakteri *Escherichia coli* kemungkinan bakteri Gram negatif lain yang menjadi penyebab mastitis pada sapi perah.

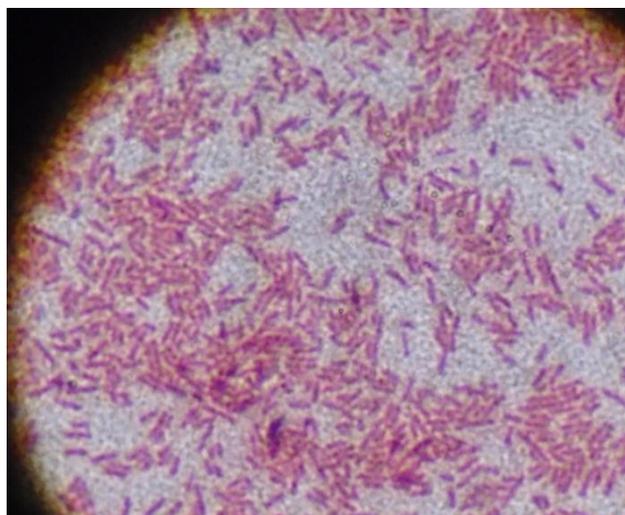
Koloni bakteri yang diduga *Escherichia coli* yang dihasilkan pada media Endo Agar (EA) dilanjutkan dengan uji mikroskopis dengan pewarnaan Gram dan uji biokimia untuk mengidentifikasi bakteri tersebut adalah *Escherichia coli*.

## **B. Hasil pewarnaan Gram**

Pengecatan Gram pada penelitian ini bertujuan untuk melihat morfologi bakteri dan bentuk sel bakteri tersebut. Pewarnaan Gram juga untuk memastikan bahwa bakteri tersebut golongan Gram negatif. Pewarnaan bakteri dengan menggunakan pewarnaan Gram menunjukkan hasil yang positif bakteri Gram negatif dengan terbentuknya warna merah karena kehilangan warna kristal violet ketika dicuci dengan alkohol dan sewaktu diberi warna merah safranin, tampak berwarna merah yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri

Gram negatif. Hasil identifikasi bakteri yang telah dilakukan dengan pengecatan Gram menunjukkan hasil yang positif bahwa bakteri tersebut golongan Gram negatif dengan adanya koloni berbentuk batang dan berwarna merah saat preparat dilihat menggunakan mikroskop.

Perbedaan pewarnaan antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif disebabkan karena dipengaruhi oleh komposisi dinding sel bakteri tersebut. Dinding sel bakteri Gram positif cukup tebal (20-80nm) dari 60-100% peptidoglikan. Dinding sel bakteri Gram negatif mempunyai susunan yang lebih rumit dari pada Gram positif yaitu mengandung lebih sedikit peptidoglikan (10-20%), tetapi di luar lapisan peptidoglikan ada struktur membran kedua yang tersusun dari protein, fosfolipida, dan lipopolisakarida. Kompleks zat warna yodium bakteri Gram positif akan terperangkap diantara dinding sel dan sitoplasma organisme Gram positif sedangkan pada bakteri Gram negatif kompleks pewarnaan yodium pada zat lipida dinding sel bakteri akan terbilas oleh alkohol (Volk & Wheeler 1988).



**Gambar 2. Pewarnaan bakteri yang diduga *Escherichia coli* hasil isolasi air susu sapi perah mastitis di Boyolali menggunakan pewarnaan Gram**

**Tabel 2. Hasil pewarnaan Gram bakteri yang diduga *Escherichia coli* hasil isolasi air susu sapi perah mastitis dan *Escherichia coli* ATCC 25922**

No. sampel	Warna	Bentuk	Dugaan sementara
1	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>
2		Tidak dilanjutkan uji pewarnaan Gram	
3		Tidak dilanjutkan uji pewarnaan Gram	
4	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>
5	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>
6	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>
7	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>
8	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>
9	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>
10	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>
11	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>
12	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>
13	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>
14	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>
15	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>
16	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>
17	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>
18	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>
19	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>
20	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>
<hr/>			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Merah	Batang	<i>Escherichia coli</i>

### C. Hasil uji biokimiawi

Uji biokimia merupakan uji yang di dasarkan pada sifat bakteri dalam mengubah suatu senyawa tertentu dan dapat ditunjukkan secara spesifik melalui media SIM, KIA, LIA, dan citrat. Hasil uji biokimia terhadap koloni yang diduga *Escherichia coli* dapat dilihat pada gambar 3 dan tabel 3.



**Gambar 3. Hasil uji biokimiawi bakteri yang diduga *Escherichia coli* pada media KIA, SIM, LIA, citrat**

**Tabel 3. Hasil uji identifikasi bakteri yang diduga *Escherichia coli* dan *Escherichia coli* ATCC 25922 secara biokimia**

No. sampel	Biokimia				Kesimpulan
	KIA	SIM	LIA	Citrat	
1	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
2			Tidak dilanjutkan uji biokimia		
3			Tidak dilanjutkan uji biokimia		
4	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
5	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
6	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
7	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
8	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
9	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
10	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
11	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
12	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
13	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
14	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
15	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
16	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
17	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
18	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
19	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
20	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
Bakteri					
<i>Escherichia coli</i>	A/AG <sup>S-</sup>	+++	K/K <sup>S-</sup>	Hijau	<i>Escherichia coli</i>
ATCC 25922					

**Keterangan :**

<b>SIM</b>	: Sulfida Indol Motility	<b>A</b>	: Acid (kuning)
<b>LIA</b>	: Lysin Iron Agar	<b>K</b>	: Alkali (merah atau ungu)
<b>KIA</b>	: Kliger Iron Agar	<b>S</b>	: Sulfida (hitam)
(+)	: Reaksi Positif	<b>G</b>	: Gas
(-)	: Reaksi negatif		

Hasil pengujian pada media Sulfida Indol Motilitas (SIM) untuk mengetahui terbentuknya sulfide, indol, dan motilitas. Pengujian dengan media Sulfida Indol Motilitas (SIM) setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan hasil +++, pada uji sulfida hasilnya negatif (-) artinya *Escherichia coli* tidak dapat mereduksi thiosulfat sehingga tidak menghasilkan hydrogen

sulfide sehingga media tidak berwarna hitam. Pada penambahan reagen Erlich A dan B, permukaan media berwarna merah muda ini berarti uji indol positif (+), artinya bakteri *Escherichia coli* membentuk indol. Uji motilitas positif (+) ditunjukkan dengan penyebaran pertumbuhan di media Sulfida Indol Motilitas.

Hasil pengujian pada media Kliger's Iron Agar (KIA) untuk mengetahui terjadinya fermentasi karbohidrat, ada tidaknya gas dan pembentukan sulfide. Hasil uji pada media Kliger's Iron Agar (KIA) setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C didapatkan hasil A/AGS(-), A/A yang artinya pada bagian lereng dan dasar media berwarna kuning, hal ini menunjukkan bahwa bakteri memfermentasi glukosa dan laktosa, G artinya terbentuknya gas yang ditandai dengan terangkatnya media. S (-) artinya Uji H<sub>2</sub>S negatif ditunjukkan dengan media tidak berwarna hitam karena bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H<sub>2</sub>S.

Hasil pengujian media Lysin Iron Agar (LIA) untuk mengetahui deaminasi lisin dan sulfide. Uji media Lysin Iron Agar (LIA) setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C diperoleh hasil K/KS(-), K/K artinya bagian lereng media berwarna ungu, bagian dasar berwarna ungu, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak mendeaminasi lisin tetapi mendekarboksilasi lisin yang menyebabkan reaksi basa (warna ungu) di seluruh media. Uji H<sub>2</sub>S negatif yang ditunjukkan dengan tidak terbentuk warna hitam pada media karena bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H<sub>2</sub>S.

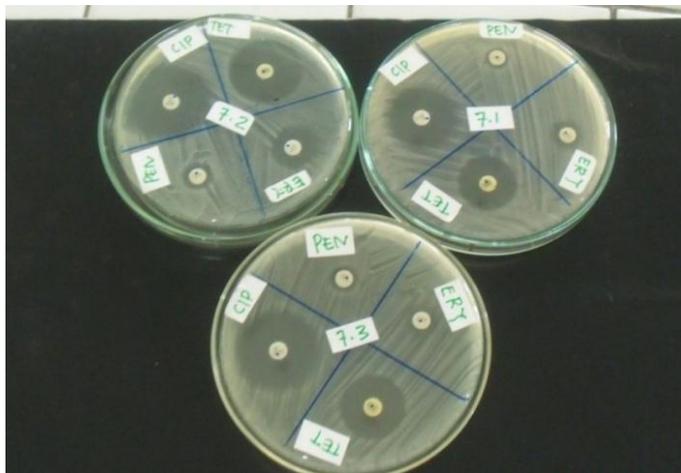
Hasil pengujian pada media Citrat untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan Citrat sebagai sumber karbon tunggal. Uji pada media Citrat setelah

diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C didapatkan hasil negatif yaitu terbentuknya warna hijau pada media, artinya bakteri *Escherichia coli* tidak menggunakan Citrat sebagai sumber karbon tunggal (Power & Mc Cuen 1988).

#### **D. Hasil uji sensitivitas**

Pengujian sensitivitas dilakukan pada koloni yang positif teridentifikasi *Escherichia coli*. Uji sensitivitas digunakan media Mueller Hinton Agar (MHA) karena media tersebut merupakan media yang baik dalam uji aktivitas daya hambat antibakteri dengan metode difusi cakram dan memiliki kandungan nutrisi yang tersiri dari ekstrak daging, asam hidrolisis kasein, pati (karbohidrat), dan agar serta merupakan standarisasi *clinical and laboratory standards institute* (CLSI) dalam menguji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram. Koloni tersebut disuspensikan dengan media Brain Heart Infusion (BHI) dan kekeruhannya disamakan dengan standart Mc Farland 0,5 %. Suspensi tersebut diinokulasikan ke dalam media Mueller Hinton Agar (MHA) dengan merata kemudian dimasukan cakram antibiotik penisilin G, tetrasiklin, eritromisin dan siprofloksasin diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kepekaan bakteri terhadap antibiotik yang diuji ditandai dengan adanya zona jernih yang mengelilingi cakram antibiotik. Pengamatan dapat dilakukan dengan cara mengukur diameter dari zona jernih di sekitar cakram antibiotik yang telah diletakkan pada media Muller Hinton Agar (MHA). Zona jernih tersebut menunjukkan kemampuan antibiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan

dapat membunuh bakteri *Escherichia coli*. Hasil uji sensitivitas dapat dilihat pada gambar 4.



**Gambar 4. Hasil uji kepekaan bakteri *Escherichia coli* terhadap antibiotik penisilin G, tetrasiklin, eritromisin, dan siprofloksasin.**

Hasil penelitian tentang uji sensitivitas antibiotik penisilin G, tetrasiklin, eritromisin dan siprofloksasin terhadap bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Escherichia coli* dari sampel air susu sapi perah mastitis dari daerah Boyolali dan juga hasil uji sensitivitas antibiotik penisilin G, tetrasiklin, eritromisin dan siprofloksasin terhadap bakteri murni *Escherichia coli*. Hasil uji sensitivitas dapat dilihat pada tabel 4 dan 5.

**Tabel 4. Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik penisilin G, tetrasiklin, eritromisin dan siprofloksasin Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922**

Bakteri	Replikasi	Diameter zona jernih ( mm )							
		Penisilin G		Tetrasiklin		Eritromisin		Siprofloksasin	
		D	PS	D	PS	D	PS	D	PS
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1	29	S	33	S	23	S	44	S
	2	29	S	32	S	24	S	43	S
	3	30	S	33	S	24	S	45	S

**Keterangan :**

**D** = diameter  
**PS** = pola sensitivitas  
**S (Susceptible)** = sensitif

**Tabel 5. Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik penisilin G, tetrasiklin, eritromisin dan siprofloksasin Terhadap Bakteri Uji *Escherichia coli***

Sampel	Replikasi	Diameter zona jernih (mm)							
		Penisilin G		Tetrasiklin		Eritromisin		Siprofloksasin	
		D	PS	D	PS	D	PS	D	PS
1	1	13	R	23	S	9	R	40	S
	2	13	R	24	S	10	R	39	S
	3	12	R	24	S	11	R	39	S
2		Tidak dilakukan uji sensitivitas							
3		Tidak dilakukan uji sensitivitas							
4	1	11	R	24	S	11	R	33	S
	2	10	R	25	S	11	R	32	S
	3	11	R	24	S	12	R	33	S
5	1	14	R	23	S	9	R	39	S
	2	13	R	23	S	10	R	39	S
	3	13	R	24	S	10	R	40	S
6	1	9	R	21	S	10	R	34	S
	2	9	R	21	S	12	R	33	S
	3	9	R	20	S	11	R	34	S
7	1	9	R	25	S	11	R	36	S
	2	11	R	28	S	12	R	35	S
	3	9	R	26	S	11	R	34	S
8	1	14	R	23	S	11	R	35	S
	2	13	R	22	S	12	R	35	S
	3	11	R	22	S	12	R	34	S
9	1	13	R	25	S	11	R	38	S
	2	12	R	25	S	10	R	38	S
	3	13	R	24	S	11	R	38	S
10	1	14	R	23	S	8	R	40	S
	2	13	R	22	S	10	R	40	S
	3	14	R	24	S	10	R	41	S
11	1	13	R	22	S	11	R	36	S
	2	13	R	23	S	9	R	36	S
	3	9	R	23	S	10	R	36	S
12	1	13	R	23	S	10	R	35	S
	2	9	R	24	S	12	R	36	S
	3	11	R	22	S	10	R	36	S
13	1	13	R	25	S	10	R	37	S
	2	14	R	24	S	9	R	37	S
	3	14	R	24	S	11	R	37	S
14	1	14	R	24	S	11	R	41	S
	2	13	R	25	S	11	R	38	S
	3	13	R	23	S	10	R	38	S
15	1	13	R	26	S	9	R	40	S
	2	12	R	27	S	9	R	40	S
	3	12	R	25	S	10	R	41	S
16	1	13	R	24	S	9	R	40	S
	2	13	R	24	S	10	R	39	S
	3	14	R	23	S	10	R	39	S
17	1	14	R	23	S	10	R	38	S
	2	14	R	23	S	11	R	39	S
	3	14	R	24	S	11	R	39	S

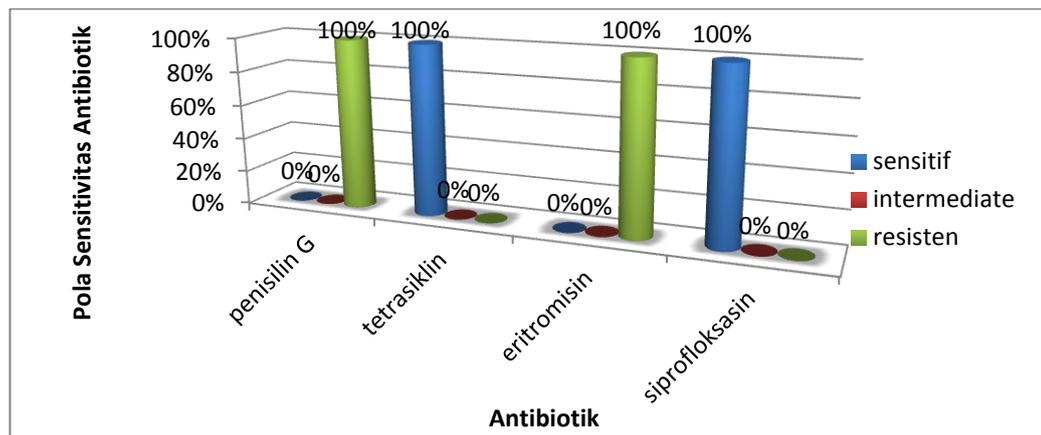
18	1	13	R	22	S	9	R	40	S
	2	14	R	23	S	9	R	39	S
	3	14	R	23	S	10	R	39	S
19	1	10	R	26	S	10	R	38	S
	2	11	R	26	S	10	R	38	S
	3	12	R	25	S	11	R	38	S
20	1	14	R	26	S	9	R	39	S
	2	14	R	25	S	9	R	39	S
	3	13	R	24	S	10	R	40	S

**Keterangan :**

<b>D</b>	= diameter
<b>PS</b>	= pola sensitivitas
<b>R</b>	= Resisten
<b>S (Susceptible)</b>	= sensitif

Uji sensitivitas dilakukan dengan metode Kirby-Bauer. Hasil uji sensitivitas dari penelitian ini menunjukkan diameter daerah hambatan yang bervariasi dari masing-masing antibiotik terhadap bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari sampel air susu sapi perah di daerah Boyolali. Hasil tersebut dapat dilihat bahwa bakteri *Escherichia coli* menunjukkan pola sensitivitas yang berbeda-beda. Hasil ukuran diameter daya hambat yang berbeda disebabkan karena antibiotika yang berbeda mempunyai laju difusi yang berbeda pula, sehingga perlu mengacu pada tabel standar Kirby-Bauer (Lampiran 10) untuk memastikan kerentanan bakteri terhadap antibiotika uji.

Keempat antibiotik tersebut dua diantaranya yaitu tetrasiklin dan siprofloksasin masih *susceptible* terhadap bakteri *Escherichia coli* sehingga masih dapat digunakan sebagai terapi pilihan untuk penyakit mastitis pada sapi perah. Antibiotik penisilin G dan eritromisin terjadi resistensi terhadap bakteri *Escherichia coli* dari isolasi air susu sapi perah mastitis di Boyolali. Perbandingan diameter hambat dari keempat antibiotik tersebut terhadap bakteri *Escherichia coli* dari sampel air susu sapi perah mastitis di daerah Boyolali dan *Escherichia coli* ATCC 25922 memiliki perbedaan diameter yang jauh.



**Gambar 5. Hasil prosentase pola sensitivitas antibiotik penisilin G, tetrasiklin, eritromisin dan siprofloksasin terhadap bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari air susu sapi perah mastitis di Boyolali pada bulan february-april tahun 2013**

Gambar 5 menunjukkan hasil uji sensitivitas antibiotik penisilin G, tetrasiklin, eritromisin dan siprofloksasin terhadap bakteri *Escherichia coli* dari 18 sampel air susu sapi perah mastitis yang positif terdapat bakteri *Escherichia coli*. Berdasarkan uji sensitivitas tersebut terhadap keempat antibiotik diketahui bahwa *Escherichia coli* masih sensitif terhadap tetrasiklin (100%) dan siprofloksasin (100%), dan diketahui *Escherichia coli* telah resisten terhadap penisilin G (100%) dan eritromisin (100%) dari 18 isolat *Escherichia coli* dari air susu sapi perah mastitis di Boyolali.

#### **E. Uji Statistik**

Pengujian statistik dengan menggunakan SPSS perlu dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan tingkat kepekaan yang signifikan antara bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari air susu sapi perah mastitis di Boyolali dengan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Pengujian statistik dengan menggunakan SPSS juga untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan kepekaan yang signifikan antara antibiotik penisilin G, tetrasiklin, eritromisin dan

siprofloksasin. Uji one sample Kolmogorov Smirnov merupakan uji SPSS pertama yang dilakukan untuk menentukan kenormalan data yang didapat. Data dinyatakan normal jika hasil signifikan pada uji tersebut menunjukkan nilai  $>0,05$  dan dinyatakan tidak terdistribusi normal jika hasil signifikansi menunjukkan  $<0,05$ . Nilai signifikansi yang ditunjukkan bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari air susu sapi perah mastitis di Boyolali dan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada antibiotik penisilin G pada uji one sample Kolmogorov Smirnov adalah 0,00 yang nilainya  $<0,05$ . Antibiotik tetrasiklin nilai signifikasinya adalah 0,012 yang nilainya  $<0,05$ . Antibiotik eritromisin nilai signifikasinya adalah 0,00 yang nilainya  $<0,05$  sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa data tersebut tidak terdistribusi normal. Nilai signifikansi pada antibiotik siprofloksasin adalah 0,157 yang nilainya  $>0,05$ , dapat diambil kesimpulan data tersebut terdistribusi normal. Hasil uji one sample Kolmogorov Smirnov dapat dilihat pada lampiran 12.

Data yang tidak terdistribusi normal dilanjutkan uji Kruskal Wallis yang termasuk dalam *nonparametric test*. Uji Kruskal Wallis dilakukan untuk melihat adanya perbedaan tingkat yang nyata antara bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari air susu sapi perah mastitis di Boyolali dan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada antibiotik penisilin G, tetrasiklin dan eritromisin. Uji Kruskal Wallis dinyatakan memiliki perbedaan tingkat kepekaan yang nyata jika nilai signifikansi pada hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan nilai  $<0,05$  dan tidak memiliki perbedaan tingkat kepekaan yang nyata jika nilai signifikansi pada hasil uji Kruskal Wallis bernilai  $>0,05$ .

Nilai signifikansi dari uji Kruskal Wallis yang dilakukan antara bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari air susu sapi perah mastitis di Boyolali dan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada antibiotik penisilin G, tetrasiklin dan eritromisin semua menunjukkan nilai sebesar 0,003 yang nilainya  $<0,05$ , sehingga dapat disimpulkan bahwa bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari air susu sapi perah mastitis di Boyolali dan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada antibiotik penisilin G, tetrasiklin dan eritromisin memiliki tingkat kepekaan yang berbeda secara nyata. Hasil uji Kruskal Wallis dapat dilihat pada lampiran 12.

Data yang terdistribusi normal pada uji one sample Kolmogorov Smirnov bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari air susu sapi perah mastitis di Boyolali dan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada antibiotik siprofloksasin dilanjutkan uji T. Nilai signifikansi pada uji T adalah 0,00 yang nilainya  $<0,05$  yang berarti memiliki tingkat kepekaan yang berbeda secara nyata. Hasil uji T dapat dilihat pada lampiran 12.

Uji one-sample Kolmogorov Smirnov antara antibiotik penisilin G, tetrasiklin, eritromisin dan siprofloksasin juga dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan kepekaan yang nyata. Nilai signifikansi dari uji one-sample Kolmogorov-Smirnov adalah 0,00 yang nilainya  $<0,05$ , dapat diambil kesimpulan bahwa data tersebut tidak terdistribusi normal. Hasil uji one-sample Kolmogorov Smirnov dapat dilihat pada lampiran 12.

Data yang tidak terdistribusi normal dilanjutkan uji Kruskal Wallis. Uji Kruskal Wallis dilakukan untuk melihat adanya perbedaan tingkat yang nyata antara siprofloksasin, penisilin G, tetrasiklin dan eritromisin. Siprofloksasin,

penisilin G, tetrasiklin dan eritromisin dinyatakan memiliki perbedaan tingkat kepekaan yang nyata jika nilai signifikansi pada hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan nilai  $<0,05$  dan tidak memiliki perbedaan tingkat kepekaan yang nyata jika nilai signifikansi pada hasil uji Kruskal Wallis bernilai  $>0,05$ .

Nilai signifikansi dari uji Kruskal Wallis yang dilakukan menunjukkan nilai sebesar 0,00 yang  $<0,05$  sehingga dapat disimpulkan bahwa keempat antibiotik tersebut memiliki tingkat kepekaan yang berbeda secara nyata. Hasil uji Kruskal Wallis dapat dilihat pada lampiran 12.

Uji Mann Whitney adalah uji lanjutan yang dilakukan untuk mengukur adanya kebermaknaan diameter zona hambat masing-masing antibiotik yang tidak saling berhubungan. Hasil uji Mann Whitney untuk tingkat kepekaan antibiotik penisilin G dan tetrasiklin, penisilin G dan eritromisin, penisilin G dan siprofloksasin, tetrasiklin dan eritromisin, tetrasiklin dan siprofloksasin, serta antara eritromisin dan siprofloksasin semuanya menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,00 yang  $<0,05$ . Nilai signifikansi tersebut menunjukkan bahwa antara masing-masing kedua antibiotik yaitu antara penisilin G dan tetrasiklin, penisilin G dan eritromisin, penisilin G dan siprofloksasin, tetrasiklin dan eritromisin, tetrasiklin dan siprofloksasin, serta antara eritromisin dan siprofloksasin memiliki tingkat kepekaan yang berbeda secara nyata. Perbedaan tingkat kepekaan yang nyata menunjukkan bahwa pada pemberian antibiotik penisilin G, tetrasiklin, eritromisin dan siprofloksasin akan memberikan efek terapi yang berbeda. Hasil uji Mann Whitney dapat dilihat pada lampiran 12.

Perbedaan yang nyata antara bakteri *Escherichia coli* dari sampel air susu sapi perah mastitis di daerah Boyolali dan terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada keempat antibiotik bisa disebabkan karena seringnya sapi-sapi perah terpapar antibiotik-antibiotik tersebut. Pengobatan dengan antibiotik masih menjadi pilihan utama dokter hewan dalam mengobati mastitis. Bakteri mengalami perubahan atau bermutasi karena seringnya diberi antibiotik tersebut dalam mengobati sapi perah mastitis di daerah Boyolali (Poeloengan 2009).

Siprofloksasin terbukti sebagai antibiotik yang memiliki diameter hambatan paling besar dibandingkan dengan penisilin G, tetrasiklin, dan eritromisin. Antibiotik tetrasiklin juga masih terbukti sensitif untuk membunuh bakteri *Escherichia coli* hasil isolasi sampel air susu sapi perah mastitis di Boyolali (Lampiran 12).

Antibiotik penisilin G dan eritromisin pada penelitian ini didapatkan resisten terhadap *Escherichia coli* hasil isolasi air susu sapi perah mastitis di daerah Boyolali karena penisilin G ini memiliki aktivitas terbesar terhadap bakteri Gram positif, Gram negatif kokkus (bulat), bakteri anaerob yang tidak memproduksi beta-laktamase, dan mempunyai sedikit aktivitas terhadap Gram negatif batang, dan eritromisin juga efektif terhadap bakteri Gram positif, tidak efektif terhadap bakteri Gram negatif karena produksi esterase oleh enterobacteriaceae (Katzung 2004). Eritromisin bisa digunakan dalam masa laktasi atau masa kering kandang, sementara tetrasiklin merupakan antibiotika penting yang digunakan dalam peternakan sapi perah sebagai tambahan minuman pengganti susu untuk anak sapi yang berfungsi untuk meningkatkan pertumbuhan

berat badan anak sapi (Effendi 2009). Diameter hambatan tetrasiklin hampir mendekati resisten. Penggunaan tetrasiklin yang bukan untuk kepentingan pengobatan secara terus menerus akan mengakibatkan tetrasiklin tidak sensitif lagi.

Penggunaan antibiotik yang bukan untuk kepentingan terapi merupakan salah satu penyebab hilangnya efektivitas antibiotik. Pemberian antibiotik pada hewan tidak sakit diduga kuat sebagai penyebab terjadinya resistensi. Antibiotik dengan dosis rendah yang rutin diberikan pada ternak sehat dengan tujuan mencegah penyakit, dapat menyebabkan terganggunya ekologi mikroba normal dan terbasminya kelompok bakteri yang sensitif sementara kelompok bakteri yang resisten akan tumbuh subur dan berkembang biak menjadi populasi yang patogen. Penggunaan antibiotik dalam pemberian yang tidak tepat dan kurang adekuat dapat juga menyebabkan terjadinya resistensi. Pemberian antibiotik sesuai dosis dan lama pemberian yang benar agar pengobatan dapat efektif dan tidak timbul resistensi (Krisnaningsih 2005).

Antibiotik siprofloksasin aktif sekali terhadap bakteri Gram negatif terutama enterobacteriaceae. Fluorokuinolon diserap dengan cepat melalui saluran cerna. Efek samping golongan kuinolon biasanya dapat ditoleransi dengan baik. Tetrasiklin memiliki spektrum antibakteri yang luas meliputi gram positif dan Gram negatif. Golongan tetrasiklin termasuk antibiotik yang bekerja dengan jalan menghambat sintesis protein bakteri (Setiabudy 2007).

Penggunaan antibiotika pada hewan ternak dapat menimbulkan adanya residu antibiotika dalam susu, alergi, resistensi serta mempengaruhi proses

pengolahan hasil susu. Tindakan yang membahayakan konsumen adalah mencampur susu dari sapi yang sedang mendapatkan pengobatan antibiotika dengan susu dari sapi yang sehat. Akibatnya susu menjadi tidak aman untuk dikonsumsi karena terkontaminasi oleh bakteri dan mengandung residu antibiotika. Resistensi antibiotika pada manusia muncul setelah mengkonsumsi susu atau makanan lain yang mengandung antibiotika dalam jangka waktu tertentu. Resistensi kelompok tetrasiklin pada manusia dapat terjadi karena mengkonsumsi produk ternak yang mengandung residu tetrasiklin dalam waktu yang lama, disamping itu karena hewan mendapatkan pengobatan tetrasiklin secara terus menerus (Suwito 2011). Sapi mendapatkan pengobatan dengan antibiotik, selama pengobatan air susu sapi mastitis seharusnya tidak dikonsumsi dan harus dibuang, sapi juga tidak boleh dipotong.

Pengendalian mastitis dapat dilakukan dengan mencuci tangan sebelum pemerahan dengan larutan desinfektan, melakukan pemerahan dengan baik dan benar tanpa bahan pelicin dengan pemerahan sampai kosong, sapi yang menderita mastitis diperah terakhir dan harus dikeluarkan dari kandang bila tidak sembuh dengan pengobatan, melakukan pemeriksaan secara rutin terhadap kejadian mastitis, mengukur produksi sapi per ekor per hari secara teratur dan melakukan pencelupan atau dipping puting ke dalam larutan desinfektan setelah selesai pemerahan dan memperhatikan kebersihan kandang (Arimbi 2005).