

# AKTIVITAS HEMAGGLUTINASI ISOLAT *Streptococcus agalactiae* PADA BERBAGAI SEL DARAH MERAH HEWAN DAN MANUSIA

## HEMAGGLUTINATION ACTIVITIES OF *Streptococcus agalactiae* ISOLATES ON THE ANIMAL AND HUMAN ERYTHROCYTES

Iwan Harjono Utama<sup>1</sup>, Anak Agung Sagung Kendran<sup>1</sup>, I Wayan Teguh Wibawan<sup>2</sup>, Fachriyan Hasmi Pasaribu<sup>2</sup> dan Agnes Endang Tri Hastuti Wahyuni<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jimbaran-Bali, E-mail: iwanhu@eudoramail.com,

<sup>2</sup>Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, <sup>3</sup>Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gajah Mada, Yogyakarta

### ABSTRAK

*Media Veteriner*. 2000. 7(2): 5-8.

Sebanyak 55 isolat *S. agalactiae* yang terdiri dari 19 isolat standar dan 36 isolat lapang asal sapi penderita mastitis subklinis telah diamati ekspresi fenotip dan aktivitas hemaglutinasinya. Sebanyak 5 (18); 3 (4); 2 (7); 1 (2); dan 5 (11) isolat (tanda kurung menunjukkan jumlah isolat lapang) mampu mengaglutinasi darah sapi, kuda, domba, ayam dan manusia. Sebaran pola hemaglutinasi juga disajikan dalam tulisan ini.

**Kata-kata kunci:** *Streptococcus agalactiae*, hemaglutinasi

### ABSTRACT

*Media Veteriner*. 2000. 7(2): 5-8.

Hemagglutination activities and phenotypic expressions of fifty-five *S. agalactiae* isolates consisted of 19 standard and 36 field isolates from subclinical mastitis cattle were observed. Five (eighteen); 3 (4); 2 (7); 1 (2); and 5 (11) isolates (numbers in brackets indicated field isolates) were able to hemagglutinate cattle, horse, sheep, chicken, and human erythrocytes, respectively. The distribution of hemagglutination pattern was discussed in this paper.

**Key words:** *Streptococcus agalactiae*, hemagglutination

### PENDAHULUAN

Kemampuan mikroba melekat pada sel inang merupakan tahap awal untuk dimulainya proses infeksi yang melibatkan banyak faktor. Dari pihak mikroba (dalam hal ini bakteri) adanya komponen permukaan sel seperti kapsel, dinding sel dan pili mampu memperantarai perlekatan, sedangkan dari pihak sel inang komponen seperti protein dan karbohidrat membran sel mampu menjadi reseptornya (Mims, 1982). Kajian perlekatan

bakteri (khususnya *Streptococcus agalactiae* grup B menurut Lancefield) pada sel inang telah banyak dikaji (Bramley dan Hogben, 1982; Nealon dan Mattingly, 1985; Teti *et al.*, 1987). Mereka mengatakan komponen permukaan sel seperti asam teikoat dan lipoteikoat berperan dalam memperantarai proses tersebut. Protein-protein permukaan sel *S. agalactiae* juga berperan dalam proses perlekatan pada sel inang (Wibawan *et al.*, 1992).

Hemaglutinasi merupakan model interaksi yang relatif sederhana antara mikroba dan eritrosit (sel inang), metode ini dapat digunakan untuk melacak sifat adhesif mikroba (Duguid *et al.*, 1955; Roth, 1988). Banyak penelitian mengenai aktivitas hemaglutinasi bakteri telah dilakukan (Kurl *et al.*, 1989; Gottschalk, *et al.*, 1990; Oyston dan Handley, 1991; Wibawan *et al.*, 1993; Namavar *et al.*, 1994). Berdasarkan metode ini ingin diketahui aktivitas hemaglutinasi isolat *Streptococcus agalactiae* pada berbagai darah hewan piara. Hasil penelitian ini diharapkan selain sebagai informasi dasar mengenai aktivitas hemaglutinasi, juga berguna untuk mengetahui karakter hemaglutinin dan pengembangan terapi anti adhesif (Ofek *et al.*, 1996).

### BAHAN DAN METODE

Sebanyak 55 isolat *S. agalactiae* terdiri dari 19 isolat standar rujukan internasional (dari Justus Leibig Universitas, Giessen-Germany) dan 36 isolat lapang yang diambil dari sapi penderita mastitis subklinis di daerah Bogor dan sekitarnya. Isolat lapang telah diuji sebagai *S. agalactiae* grup B menurut Lancefield (Yanuarsi, 1994; Sukada, 1996). Isolat dipelihara dan disimpan pada agar yang mengandung darah domba 5%.

Semua isolat (berasal dari satu koloni tunggal) ditumbuhkan pada media cair Todd Hewitt dengan inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Ekspresi fenotip isolat pada media cair diamati dengan cara yang sama (Utama *et al.*, 1997a; Utama *et al.*, 1997b). Setelah pengamatan ekspresi fenotip, semua biakan dicuci menggunakan larutan garam setimbang fosfat (PBS) 0,14 M dingin seperti pada tulisan sebelumnya (Utama *et al.*,

1997a; Utama *et al.*, 1997b). Pelet disuspensikan dalam larutan PBS 0,14 M dingin, lalu dikalibrasi menggunakan spektrofotometer (Spectronic 20, Bausch and Lomb, USA) dengan panjang gelombang 620 nm dan transmisi cahaya 10% (suspensi mengandung  $10^9$  sel per ml.) (Wibawan dan Laemmler, 1990). Pelet disimpan pada tempat yang berisi es.

Pengambilan darah sapi, manusia, kuda, domba, dan ayam menggunakan antibekuan sitrat, fosfat, dekstrosa (CPD) cair (Terumo Corp. Japan) sebanyak 1 bagian CPD untuk 6 bagian darah. Pembuatan suspensi eritrosit 2% dilakukan dengan cara pencucian menggunakan larutan PBS 0,14 M dingin (Utama, 1983). Suspensi ini akan digunakan untuk pengujian hemaglutinasi.

Pengujian hemaglutinasi dilakukan dengan cara mencampurkan masing-masing 50  $\mu$ l suspensi bakteri dan suspensi eritrosit 2% pada gelas obyek. Campuran digoyang-goyang, kemudian dibiarkan selama 1 sampai 2 menit pada suhu kamar. Sebagai kontrol positif digunakan isolat *Streptococcus agalactiae* X-24/60 (rujukan Internasional) (Kurl *et al.*, 1989), dan sebagai kontrol negatif digunakan larutan PBS 0,14 M yang dicampur dengan suspensi eritrosit 2% ekivolome. (Wibawan *et al.*, 1993). Hasil positif aglutinasi dinyatakan dengan terbentuknya aspek seperti pasir. Prosedur ini dilakukan terhadap semua isolat dan suspensi eritrosit 2% dari berbagai hewan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada Tabel 1 dapat dilihat proporsi isolat lapang dengan ekspresi fenotip jernih dan keruh relatif hampir sama, ini berbeda dengan data Sukada (1996) yang menyatakan bahwa sebagian besar isolat *S. agalactiae* asal sapi penderita mastitis subklinis bersaspek kompak. Perbedaan ini belum jelas penyebabnya, kemungkinan pertumbuhan *in vitro* dengan medium kaya merupakan salah satu penyebabnya. Selain itu, efek *in vivo* seperti sistim pertahanan inang juga tidak ada pada sistim *in vitro* (Cornelis, 1997). Tabel 2 memperlihatkan aktivitas

hemaglutinasi isolat *S. agalactiae* pada berbagai darah asal hewan dan manusia.

Tabel 1. Sebaran ekspresi fenotip isolat *S. agalactiae* standar dan lapang pada media cair Todd Hewitt

Isolat	Supernatan		Jumlah
	Keruh	Jernih	
Standar	10	9	19
Lapang	19	17	36
Jumlah	29	26	55

Sebagian besar isolat memiliki aktivitas hemaglutinasi pada eritrosit sapi dan ayam (Tabel 2). Fenomena menarik ialah kemampuan darah ayam menghemaglutinasi sebagian besar isolat, meskipun isolat bukan berasal dari ayam. Hal ini disebabkan kemungkinan eritrosit ayam dapat berinteraksi dengan asam teikoat bakteri selain dengan hemaglutinannya (Courtney *et al.*, 1990; Gottschalk *et al.*, 1990) walaupun masih perlu dikaji lebih lanjut.

Hubungan antara ekspresi fenotip dengan kemampuan hemaglutinasi tertera pada Tabel 3. Terlihat adanya hubungan antara ekspresi fenotip dan kemampuan bakteri menghemaglutinasi salah satu atau lebih eritrosit hewan dan manusia, keberadaan kapsul merupakan hal yang paling mungkin untuk menerangkan fenomena di atas (Wibawan dan Laemmler, 1991).

Kapsul merupakan lapisan terluar sel bakteri dimana mayoritas terdiri dari polisakarida kompleks, pada *S. agalactiae* kapsul asam neuraminat mampu mencegah bakteri melekat pada sel inang, berbeda dengan bakteri tidak berkapsul yang umumnya memperlihatkan sifat adhesif kuat pada sel inang (Wibawan *et al.*, 1992). Perlu dikaji keberadaan kapsul merupakan satu-satunya penyebab terjadinya adhesivitas, sebab pada penelitian ini bakteri berkapsul mampu memperlihatkan aktivitas hemaglutinasi pada salah satu atau lebih eritrosit hewan termasuk manusia.

Tabel 2. Sebaran aktivitas aglutinasi *S. agalactiae* pada berbagai darah asal hewan dan manusia

Jumlah isolat			Aktivitas hemaglutinasi				
Lapang	Standar	Sapi	Domba	Kuda	Ayam	Manusia	
16	14	-	-	-	-	-	
9	0	+	-	-	-	-	
2	0	-	-	-	+	-	
3	0	+	+	-	+	-	
2	2	+	-	-	+	-	
0	1	+	-	+	+	-	
2	1	+	+	+	+	-	
2	1	+	+	+	+	+	
Jumlah isolat lapang		18	7	4	11	2	
Jumlah isolat standar		5	2	3	5	1	

Tabel 3. Hubungan antara aktivitas hemaglutinasi *S. agalactiae* dengan ekspresi fenotipnya

Fenotip	Aktivitas hemaglutinasi		Jumlah
	-	+	
Keruh	20	9	29
Jernih	8	18	26
Jumlah	28	27	55

Keterangan: Aktivitas hemaglutinasi negatif berarti bakteri tidak mampu menghemaglutinasi pada semua hewan ( $P < 0,01$ )

Namavar *et al.* (1994) menyatakan proses hemaglutinasi bukan semata-mata interaksi antara hemaglutinin dan eritrosit, asam sialat juga dapat mempengaruhi ini, sebab eritrosit memiliki reseptornya. Courtney *et al.* (1990) menyatakan proses elektrostatis antara bakteri dan sel inang pun bisa menyebabkan terjadinya proses hemaglutinasi.

Melihat cukup luasnya kisaran kemampuan hemaglutinasi *S. agalactiae* pada berbagai darah hewan termasuk manusia, hal ini perlu mendapat perhatian mengenai kemungkinan infeksi bakteri pada hewan lain, terutama ternak sapi perah, sebab menurut Wibawan (1997, komunikasi pribadi) hal ini bisa terjadi. Meskipun dari data di atas prosentase isolat yang mampu mengaglutinasi darah manusia relatif sedikit, memungkinkan bakteri ini tidak menginfeksi manusia.

Dari data di atas dapat disimpulkan aktivitas hemaglutinasi *S. agalactiae* pada darah sapi dan ayam cukup dominan, selain itu terlihat bahwa isolat berkapsul cenderung tidak mampu mengaglutinasi darah hewan-hewan di atas.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Drh. Hernomoadi Huminto, MVS sebagai Ketua Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor atas fasilitas yang diberikan. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada Sdr. Agus Sumantri dan Sdr. Soleh sebagai teknisi Laboratorium atas bantuan yang diberikan sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

### DAFTAR PUSTAKA

Bramley, A.J., and E.M. Hogben. 1982. The adhesion of human and bovine isolates of *Streptococcus agalactiae* (group B) to bovine mammary gland and epithelial cells. *J Comp. Path.* 92 : 131 - 137.

Courtney, H.S., D.L. Hasty, and I. Ofek. 1990. Hydrophobicity of group A streptococci and its relationship to adhesion of streptococci to host cells. In *Microbial Cell Surface Hydrophobicity* Edited by

R.J. Doyle and Mel Rosenberg. American Society for Microbiology Washington, USA. pp: 361-386.

Cornelis, G.R. 1997. Contact with eukaryotic cells: a new signal triggering bacterial gene expression. *Trends Microbiol.* 5:43-44.

Duguid, J.P., I.W. Smith, G. Dempster, and P.N. Edmunds. 1955. Non flagellar filamentous appendages ("fimbriae") and haemagglutinating activity in *Bacterium coli*. *J. Pathol. Bacteriol.* 70: 335-348.

Gottschalk, M., A. Lebrun, M. Jacques, and R. Higgins. 1990. Hemagglutination properties of *Streptococcus suis*. *J. Clin. Microbiol.* 28:2156-2158.

Kurl., D.N., S. Haataja, and J. Finne. 1989. Hemagglutination activities of group B, C, D, and G streptococci: demonstration of novel sugar specific cell binding activities in *Streptococcus suis*. *Infect. Immun.* 57:384-389.

Mims, C.A. 1982. The pathogenesis of infectious disease. Academic Press, London.

Namavar, F., M.W. Van der Bijl, B.J. Appelmelk, J. De Graaf, and D.M. Madaren. 1994. The role of neuraminidase in hemagglutination and adherence to colon Wi Dr cells by *Bacteroides fragilis*. *J. Med. Microbiol.* 40:393-396.

Nealon, T.J., and S.J. Mattingly. 1985. Kinetic and chemical analysis of the biologic significance of lipoteichoic acid in mediating adherence of serotype III group B streptococci. *Infect. Immun.* 50:107-115.

Oyston, P.C.F. and P.S. Handley. 1991. Surface components of *Bacteroides fragilis* involved in adhesion and hemagglutination. *J. Med. Microbiol.* 34:51-55.

Ofek, I., I. Kahane, and N. Sharon. 1996. Toward anti adhesion therapy for microbial diseases. *Trends Microbiol.* 4:297-299.

Roth, J.A. 1988. Virulence mechanism of bacterial pathogens. American Society for Microbiology, USA.

Sukada, I M. 1996. Kejadian mastitis subklinik oleh *Streptococcus agalactiae* di daerah Semplak Bogor dan pengaruhnya terhadap kualitas susu. Thesis Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.

Teti, G., F. Tomasello, M.S. Chafalo, G. Orefici, and F. Mastroeni. 1987. Adherence of group B streptococci to adult and neonatal epithelial cells mediated by lipoteichoic acid. *Infect. Immun.* 55:3057-3064.

- Utama, I.H., N.S. Rejeki, I M. Sukada, dan I W.T. Wibawan. 1997a. Isolat *Streptococcus agalactiae* asal sapi penderita mastitis subklinis: I. Ekspresi fenotip isolat *in vitro*. *Media Veteriner* 1(4):17-24.
- Utama, I.H., N.S. Rejeki, I W.T. Wibawan, dan I M. Sukada. 1997b. Isolat *Streptococcus agalactiae* asal sapi penderita mastitis subklinis: II. Hidrofobisitas permukaan sel isolat. *Media Veteriner* 4(3):9-15.
- Wibawan, I W. T., and Ch. Laemmler. 1990. Properties of group B streptococci with protein surface antigen X and R. *J. Clin. Microbiol.* 28:2834-836.
- Wibawan, I W. T., and Ch. Laemmler. 1991. Influence of capsular neuraminic acid on properties of streptococci of serological group B. *J. Gen. Microbiol.* 137:2721-2725.
- Wibawan, I W. T., and Ch. Laemmler. 1992. Relationship between group B streptococcal serotypes and cell surface hydrophobicity. *J. Vet. Med.* B39:376-382.
- Wibawan, I W. T., Ch. Laemmler and F. H. Pasaribu. 1992. Role of hydrophobic surface proteins in mediating adherence of group B streptococci to epithelial cells. *J. Gen. Microbiol.* 138:1237-1242.
- Wibawan, I.W.T., Ch. Laemmler, R.S. Seleim and F.H. Pasaribu. 1993. A hemagglutinating adhesin of group B streptococci isolated from cases of bovine mastitis mediates adherence to HeLa cells. *J. Gen. Microbiol.* 139:2173-2178.
- Yanuarsi, Y. 1994. Penentuan serotype *Streptococcus agalactiae* dari isolat lapang. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.