

Identifikasi *Streptococcus Equi* dari Kuda yang Diduga Menderita Strangles

Identification *Streptococcus Equi* from Horses Suspected Strangles

Rahmat Hidayat*, Fatri Alhadi

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan *Streptococcus equi* penyebab Strangles pada kuda. Pemeriksaan dilakukan dengan cara isolasi dan identifikasi bakteri dari 20 sampel swab mukosa hidung kuda yang diduga secara klinis terkena penyakit Strangles. Kegiatan isolasi dan identifikasi bakteri dilakukan dengan metode kultur, pewarnaan Gram, uji katalase, dan uji gula-gula. Hasil yang didapatkan dari identifikasi *Streptococcus equi* terhadap 20 ekor kuda yang diduga secara klinis terkena Strangles ditemukan satu ekor kuda yang positif *S. equi*.

Kata kunci: identifikasi, kuda, *strangles*, *streptococcus equi*

ABSTRACT

This study aims to determine the presence of the *Streptococcus equi* causes Strangles in horses. Inspection carried out by isolation and identification of bacteria from 20 samples nasal swabs of suspected horse disease Strangles. Isolation and identification of activities performed by the method of bacterial culture, Gram stain, catalase test, and with sugar test. Results obtained from a series of tests to identify the bacteria *Streptococcus equi* of 20 horses suspected by clinical strangles, there is a horse infected by Strangles disease.

Keywords: identification, horse, *Strangles*, *streptococcus equi*

PENDAHULUAN

Strangles adalah penyakit infeksius pada kuda yang bersifat akut dan disebabkan oleh *Streptococcus equi*. Karakterisasi Strangles ditandai dengan adanya peradangan respirasi bagian faring, selain itu terlihat bentuk abses di limfonodus. Strangles dapat terjadi pada semua kuda (Prescott & Wright 2003).

Penyakit Strangles pada kuda yang disebabkan oleh *Streptococcus equi* merupakan salah satu penyakit yang tersebar luas di dunia dan merupakan penyakit kuda yang mahal. Penyakit ini dicirikan dengan periode penyembuhan yang panjang. Kuda yang terkena penyakit harus diisolasi sekurangnya 4 minggu untuk mencegah penyebaran penyakit yang lebih lanjut (Flock 2004).

Dilaporkan peternakan kuda di Los Angeles utara pernah terjadi kasus wabah Strangles dimana lebih dari 60 ekor kuda berada di bawah pengawasan karantina. Menurut L.A County Department of Health Service (LADHS) telah dilakukan penutupan peternakan kuda yang telah terinfeksi di bulan maret (Wood 2005). Sedangkan wabah Strangles yang terjadi selama musim semi dan panas pada tahun 1980 di peternakan kuda di timur Alberta dari 479 ekor kuda terdapat 297 ekor kuda yang terkena penyakit Strangles (Piche 1984).

Strangles dan disebut juga *Equine Distemper* lebih sering terjadi pada umur muda dan umum di *Breeding*

Farm. Gejala umum secara klinis yaitu demam, adanya cairan atau nanah pada hidung, membesarnya limfonodus mandibular di sekitar leher dan muka. Kemungkinan komplikasi bila terjadi secara kronis akan terlihat asphyksia karena pembesaran limfonodus mandibular yang menekan saluran larink, "bastard Strangles" (menyebarkan ke seluruh anggota tubuh), pneumonia, dan kegagalan jantung. Abses yang terjadi di *retropharyngeal* getah bening dapat mengakibatkan gangguan saluran pernapasan. Hal ini disebabkan oleh kelenjar getah bening yang dapat menekan faring, laring atau trakea.

Streptococcus equi merupakan bakteri patogen yang memiliki karakteristik Gram positif dan bersifat obligat. Bakteri dapat masuk melalui mulut atau hidung menyerang sel kripta tonsil juga menyerang limfonodus superfisial. Setelah beberapa jam bakteri akan sulit dideteksi di permukaan mukosa, karena telah berpindah ke limfatik lokal yaitu satu atau beberapa limfonodus. Identifikasi *Streptococcus equi* dapat dilakukan dengan pembiakan bakteri yang diambil dari swab hidung, pencucian hidung atau pengambilan cairan nanah dari limfonodus. (Jonson & Tunkell 2000).

Status penyakit Strangles di Indonesia adalah kelompok penyakit eksotik sehingga belum ada laporan resmi keberadaan penyakit ini. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi ilmiah keberadaan penyakit ini di lapangan, sehingga menjadi masukan bagi kebijakan pemerintah atas penanganan penyakit ini.

Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesmavet, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680.

* Penulis korespondensi: E-mail: bank_thobinx@yahoo.com

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret sampai bulan Juli 2008 di Laboratorium Bakteriologi dan Laboratorium Terpadu Bagian Mikrobiologi Medik, Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner (IPHK) Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.

Sampel penelitian berupa swab mukosa hidung yang diambil secara aseptis menggunakan *cotton swab steril* dari 20 ekor kuda yang berasal dari *Pamulang Stable* sebanyak 9 ekor, kesatuan kavaleri Kelapa Gading sebanyak 9 ekor, dan kuda yang ada di Unit Rehabilitasi Reproduksi sebanyak 2 ekor.

Sampel yang diperoleh akan dikultur di *nutrient agar* dan *blood agar*, lalu dilakukan pewarnaan Gram, uji katalase, dan uji gula-gula.

- Kultur (Lay 1994)

Hasil dari swab mukosa hidung dari kuda ditanam di agar miring (*Nutrient Agar*). Kemudian dipindahkan ke media agar darah dengan menggunakan öse steril yang disebar dengan menggoreskannya pada permukaan agar dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam untuk melihat kemampuan bakteri menyebabkan lisis pada sel darah merah. Kemudian diamati isolat yang mengalami beta hemolisis dan dipindahkan lagi ke agar darah untuk proses pemurnian bakteri dengan cara yang sama.

- Pewarnaan Gram (Hucker dalam Lay 1994)

Isolat yang berasal dari agar darah yang akan diwarnai dipilih dari koloni yang memiliki morfologi khas *Streptococcus* dan mempunyai karakter β -hemolisis. Koloni khas *Streptococcus* adalah kecil dan transparan seperti tetes embun. Tahapan pewarnaan Gram diawali dengan membuat preparat ulas kemudian difiksasi diatas api. Diberi larutan kristal violet selama 1 menit dan dicuci dengan air, lalu diberi larutan lugol selama 1 menit dan larutan pemucat selama 10–20 detik, dan dicuci dengan air. Terakhir diberikan larutan safranin selama 15 detik dan dicuci dengan air, kemudian dikeringkan dengan kertas saring, lalu diamati dengan mikroskop menggunakan perbesaran 10 x 100.

- Uji katalase (Lay 1994)

Penentuan adanya enzim katalase diuji dengan larutan H₂O₂ 3% pada koloni tersebut. Uji dilakukan dengan mengambil 1 atau 2 öse koloni dan diletakkan di atas gelas obyek, lalu ditambahkan 1 tetes larutan H₂O₂ 3% dan diaduk rata. Pada bakteri yang bersifat katalase positif ditandai oleh pembentukan gelembung udara pada koloni dan sekitarnya.

- Uji gula-gula (Lay 1994)

Dari isolat yang termasuk kelompok *Streptococcus* dilakukan uji gula-gula terhadap manitol, maltosa, laktosa, dan sukrosa. Kemudian diamati perubahan yang terjadi terhadap media tersebut. Hasil yang positif ditunjukkan dengan perubahan

warna media gula dari merah menjadi kuning dan terbentuknya gas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Swab mukosa hidung pada kuda ditumbuhkan di agar miring untuk melihat pertumbuhan bakterinya. Hasil pertumbuhan mikroorganisme menampilkan warna putih dan beberapa dari mikroorganisme menghasilkan pigmen atau warna lain yang larut dan menyebar secara difusi ke dalam media. Pertumbuhan mikroba yang subur ditandai dengan koloni yang banyak dan menyebabkan permukaan media lebih buram dibandingkan dengan yang pertumbuhannya tidak subur.

Pertumbuhan di agar miring kemudian dipindahkan ke media pertumbuhan agar darah. Media agar darah ini digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme yang sulit untuk dibiakkan dan juga untuk membedakan kelompok mikroorganisme yang menyebabkan lisis atau tidak melisiskan butir darah merah. Dari 20 sampel yang digunakan, semua sampel mampu melisis butir darah merah yang terlihat sebagai wilayah jernih di sekitar koloni (Tabel 1). Bakteri yang tumbuh di plat agar darah mengalami proses *beta-hemolisis* dan *alpha-hemolisis*. *Beta-hemolisis* terjadi apabila proses lisis sempurna yang mengakibatkan terlihatnya wilayah yang benar-benar jernih. *Alpha-hemolisis* terjadi apabila proses lisis tidak sempurna dan media terlihat warna kehijauan (Schotmuller dalam Lay & Sugoyo 1992). Morfologi koloni terangka *Streptococcus* adalah kecil dan transparan seperti tetes embun.

Pewarnaan Gram merupakan pewarnaan differensial yang sangat berguna dan paling banyak diguna-

Tabel 1 Hasil Pemeriksaan Hemolisis Sel Darah Merah

Nomor sampel	Hemolisis	
	Zona	Tipe
PST1	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
PST2	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
PST3	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
PST4	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
PST5	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
PST6	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
PST7	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
PST8	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
PST9	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
KKG1	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
KKG2	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
KKG3	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
KKG4	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
KKG5	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
KKG6	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
KKG7	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
KKG8	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
KKG9	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
URR1	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis
URR2	Bening di sekitar koloni	β -hemolisis

kan dalam laboratorium mikrobiologi. Pewarnaan ini merupakan salah satu tahap penting identifikasi bakteri. Pewarnaan Gram memisahkan bakteri menjadi kelompok Gram positif dan negatif. Setelah dilakukan pewarnaan Gram dari koloni bakteri 20 sampel yang diduga *Streptococcus* yang diuji kemudian dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop terdapat 7 sampel yang termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram positif. Pada pengamatan mikroskop terhadap 7 sampel yang termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram positif terlihat warna ungu dan terlihat koloni berbentuk coccus (Tabel 2). Sedangkan pada 13 sampel lainnya dari pengamatan mikroskop terlihat warna merah (bakteri Gram negatif).

Tahapan selanjutnya adalah dengan melakukan uji katalase terhadap 7 sampel tersebut dan diperoleh hasil seluruhnya bersifat katalase negatif (Tabel 2). Hasil ini ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung udara pada koloni dan sekitarnya. Hal ini menandakan ketujuh sampel ini termasuk dalam kelompok *Streptococcus*.

Uji fermentasi karbohidrat dari 7 isolat bakteri meliputi sukrosa, laktosa, maltosa dan manitol menunjukkan hasil yang beragam. Isolat bakteri yang dapat memfermentasikan karbohidrat ditandai dengan adanya perubahan media menjadi warna kuning yang menandakan terjadinya pembentukan asam. Jika warna media tetap berwarna merah menandakan tidak terjadinya pembentukan asam.

Sampel pertama dan kelima menunjukkan hasil positif untuk maltosa, laktosa, dan sukrosa. Lalu sampel kedua dan ketiga hanya menunjukkan hasil positif untuk maltosa. Adapun sampel keempat hanya hasil sukrosa yang positif, sedangkan sampel keenam hasil maltosa dan sukrosa yang positif. Sampel ketujuh menunjukkan hasil positif untuk keempat karbohidrat (Tabel 3).

Menurut Keputusan Menteri Pertanian Nomor 110/Kpts/TN.530/2/2008 Strangles/Mink Horse/Equine Distemper/Ingus tenang termasuk ke dalam penyakit eksotik yang ada di Indonesia. Berdasarkan keputusan menteri, identifikasi penyakit ini dilakukan dengan cara isolasi bakteri. Proses isolasi penyakit ini pada awalnya mengambil usapan mukosa hidung dari kuda yang menunjukkan gejala-gejala hewan yang terkena penyakit Strangles.

Tabel 2 Isolat Bakteri yang Gram Positif dan Uji Katalasenya

Nomor Sampel	Pewarnaan Gram		Uji Katalase
	Sifat Gram	Warna	
PST1	Positif	Ungu	Negatif
PST3	Positif	Ungu	Negatif
PST8	Positif	Ungu	Negatif
KKG7	Positif	Ungu	Negatif
KKG9	Positif	Ungu	Negatif
URR1	Positif	Ungu	Negatif
URR2	Positif	Ungu	Negatif

Kelompok mikroorganisme yang sering dibedakan berdasarkan kemampuan menyebabkan lisis butir darah merah adalah *Streptococcus* dan *Staphylococcus*. Proses hemolisis disebabkan oleh enzim yang dilepaskan oleh mikroorganisme yang diterima oleh agar darah merah sehingga terjadi reaksi untuk melisis butir darah merah tersebut. Untuk bakteri *Streptococcus* akan mengalami beta hemolisis yaitu terjadi lisis yang sempurna dengan terlihatnya wilayah yang benar-benar jernih (Lay & Sugoyo 1992; Lay 1994).

Streptococcus termasuk kelompok bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet-yodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat, sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah karena kompleks tersebut larut sewaktu pemberian larutan pemucat dan kemudian mengambil zat warna kedua yang berwarna merah. Perbedaan hasil dalam pewarnaan ini disebabkan perbedaan struktur kedua kelompok bakteri tersebut.

Perbedaan struktur dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif menyebabkan perbedaan reaksi dalam permeabilitas zat warna dan penambahan larutan pemucat. Sebagian besar dinding sel bakteri Gram positif terdiri dari peptidoglikan, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif mempunyai kandungan lipida yang tinggi dibandingkan dinding sel bakteri Gram positif. Lipida ini akan larut dalam alkohol dan aseton yang digunakan sebagai larutan pemucat, sehingga pori-pori dinding sel membesar dan meningkatkan daya larut kompleks kristal violet-yodium pada dinding sel bakteri Gram negatif (Lay & Sugoyo 1992; Lay 1994).

Pada bakteri Gram positif akan terbentuk persenyawaan kompleks kristal violet yodium ribonukleat yang tidak larut dalam larutan pemucat. Persenyawaan ini tidak terbentuk pada bakteri Gram negatif sehingga diduga adanya perbedaan kandungan asan ribonukleat antara bakteri Gram positif dan Gram negatif. Pemberian larutan mordant atau yang digunakan adalah larutan lugol dimaksudkan untuk meningkatkan afinitas pengikatan zat warna oleh bakteri sehingga pengikatan zat warna oleh bakteri menjadi lebih kuat. Setelah penambahan larutan lugol

Tabel 3 Hasil Pemeriksaan Uji Fermentasi Karbohidrat

Nomor Sampel	Uji Gula-Gula			
	Mannitol	Maltosa	Laktosa	Sukrosa
PST1	-	+	+	+
PST3	-	+	-	-
PST8	-	+	-	-
KKG7	-	-	-	+
KKG9	-	+	+	+
URR1	-	+	-	+
URR2	+	+	+	+

Keterangan :

(+) = dapat memfermentasikan karbohidrat

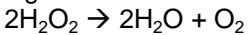
(-) = tidak dapat memfermentasikan karbohidrat Sampel nomor URR1 merupakan bakteri *Streptococcus equi*.

zat warna akan lebih jelas terlihat dan zat warna lebih sulit dilarutkan. Penambahan zat warna kedua atau safranin tidak menyebabkan perubahan warna pada bakteri Gram positif, karena persenyawaan kompleks kristal violet-yodium tetap terikat pada dinding sel. Pada bakteri Gram negatif, penambahan safranin menyebabkan sel bakteri berwarna merah, karena persenyawaan kompleks kristal violet-yodium larut dan dinding sel kemudian mengikat zat warna kedua. Fungsi zat warna safranin hanyalah sebagai pembeda (kontras) terhadap zat warna kristal violet.

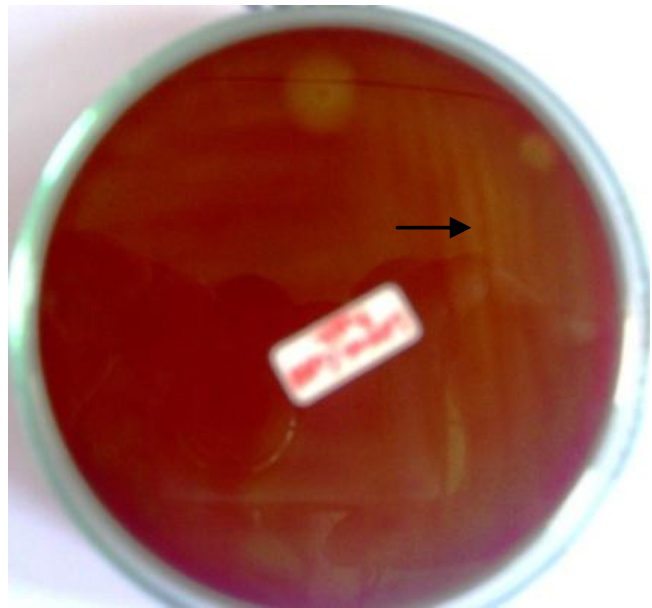
Uji katalase digunakan untuk mengetahui aktivitas katalase pada bakteri yang diuji. Kebanyakan bakteri memproduksi enzim katalase yang dapat memecah H₂O₂ menjadi H₂O dan O₂. Enzim katalase diduga penting untuk pertumbuhan aerobik karena akan memecah H₂O₂ yang bersifat racun terhadap sel mikroba.

Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktivasi enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob harus menguraikan bahan toksik tersebut. Katalase merupakan salah satu enzim yang digunakan mikroorganisme untuk menguraikan hidrogen peroksida. Bakteri katalase negatif tidak menghasilkan gelembung-gelembung. Hal ini berarti H₂O₂ yang diberikan tidak dipecah oleh bakteri katalase negatif, sehingga tidak menghasilkan oksigen. Bakteri katalase negatif tidak memiliki enzim katalase yang menguraikan H₂O₂, termasuk genus *Streptococcus*.

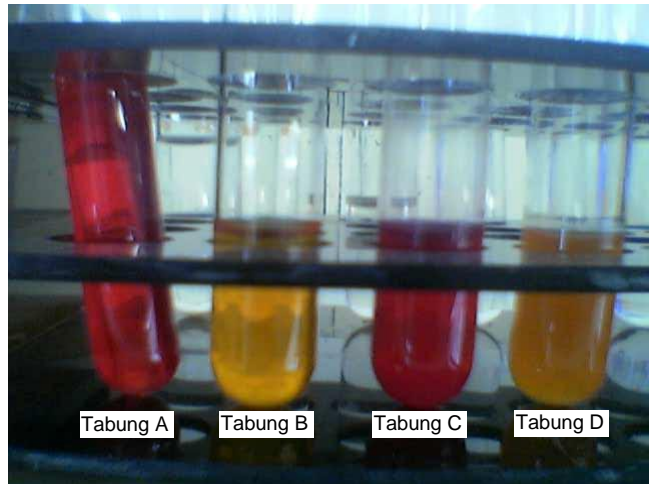
Mekanisme enzim katalase memecah H₂O₂ yaitu saat melakukan respirasi, bakteri menghasilkan berbagai macam komponen salah satunya H₂O₂. Bakteri yang memiliki kemampuan memecah H₂O₂ dengan enzim katalase maka segera membentuk suatu sistem pertahanan dari toksik H₂O₂ yang dihasilkannya sendiri. Bakteri katalase positif akan memecah H₂O₂ menjadi H₂O dan O₂ dimana parameter yang menunjukkan adanya aktivitas katalase tersebut adalah adanya gelembung-gelembung oksigen seperti pada percobaan yang telah dilakukan. Dengan enzim katalase, H₂O₂ diurai dengan reaksi sebagai berikut.



Streptococcus equi merupakan bakteri yang memiliki karakteristik Gram positif, katalase negatif, β-hemolisis positif, dan dapat memfermentasikan maltosa dan sukrosa (Sweeney *et al.* 2005). Berdasarkan hasil serangkaian uji identifikasi bakteri yang dilakukan terhadap 20 sampel kuda yang diduga secara klinis tertular Strangles, maka dapat disimpulkan terdapat 1 ekor kuda yang diteguhkan secara laboratorium terkena penyakit Strangles (Tabel 3; Gambar 1; Gambar 2). Hal ini dapat dilihat dari pertumbuhan koloni bakteri di plat agar darah yang mengalami beta hemolisis (Gambar 1). Pada pewarnaan Gram merupakan bakteri Gram positif yang berwarna ungu berbentuk bulat dan merupakan katalase negatif. Pada uji fermentasi karbohidrat didapatkan hasil bahwa isolat URR1 tersebut dapat memfermentasikan



Gambar 1 Pertumbuhan bakteri di agar darah yang menunjukkan hemolisis (24 jam).



Gambar 2 Hasil uji gula-gula bakteri *Streptococcus equi* (URR1).

Keterangan:

- Tabung A = bakteri tidak dapat memfermentasikan manitol
 - Tabung B = bakteri dapat memfermentasikan maltosa
 - Tabung C = bakteri tidak dapat memfermentasikan laktosa
 - Tabung D = bakteri dapat memfermentasikan sukrosa
- Streptococcus equi* akan memfermentasi maltosa dan sukrosa.

maltosa dan sukrosa, tetapi tidak memfermentasi manitol dan laktosa (Gambar 2). Penelitian ini menunjukkan bahwa *S. equi* ditemukan pada seekor kuda yang secara klinis menderita Strangles (sampel URR1).

KESIMPULAN

Pemeriksaan dilakukan dengan cara isolasi dan identifikasi bakteri dari 20 sampel swab mukosa

hidung kuda yang diduga secara klinis terkena penyakit Strangles. Kegiatan isolasi dan identifikasi bakteri dilakukan dengan metode kultur, pewarnaan Gram, uji katalase, dan uji gula-gula. Hasil yang didapatkan dari identifikasi *Streptococcus equi* terhadap 20 ekor kuda yang diduga secara klinis terkena Strangles ditemukan satu ekor kuda yang positif *S. equi*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada Prof. Dr. Drh. Fachriyan Hasmi Pasaribu selaku Kepala Bagian Mikrobiologi Medik yang telah memberikan izin penggunaan laboratorium drh. Amrozi, Ph.D. atas bantuannya dalam pengambilan sampel di lapangan, Agus Somantri, S.Pd. dan Roselyna Syaferina, A.Md yang telah membantu isolasi dan identifikasi di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Flock M, Jacobsson K, Frykberg L, Hirst TR, Franklin A, Guss B, Flock J. 2004. Recombinant *Streptococcus equi* Protein Protect Mice in Challenge Experiment Include Immune Response in Horses Australia: Infection and Immunity; June 2004, p. 3228–3236.
- Johnson CC, Tunkell AR. 2000. Viridans streptococci and groups C and G streptococci: β -hemolytic streptococci (groups C and G), p. 2173–2183. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (ed.), Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases, 5th ed. vol. 2. Churchill Livingstone, Philadelphia (US), PA.
- Lay BW, Sugoyo H. 1992. *Mikrobiologi*. Jakarta. CV Rajawali.
- Lay BW. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta. Raja Grafindo Persada.
- Piche CA. 1984. Clinical observation on an Outbreak of Strangles. Iowa. *Can Vet J*. 25(1): 7–11.
- Prescott JF, Wright PJ. 2003. *Strangles in Horses*. Ministry of Agricultural Food and Rural Affairs. Ontario.
- Sweeney CR, Timoney JF, Newton JR, Hines MT. 2005. *Streptococcus equi* Infection in Horses: Guidelines for Treatment, Control, and prevention of Strangles. Amerika. *J Vet Intern Med*. 19(1): 123–143.
- Wood JV. 2005. California Strangles Outbreak; At Least 60 Horses Affected. California (US). Article. <http://www.thehorse.com>