

## FERMENTASI DAN NON FERMENTASI GLUKOSA MIKOPLASMA DARI AYAM

ANDRIANI dan SOERIPTO

Balai Penelitian Veteriner, Jalan R.E. Martadinata 30, P.O. Box 151, Bogor 16114

### ABSTRAK

Mikoplasmosis pada ayam merupakan penyakit yang merugikan peternak unggas. Mikoplasma yang merugikan pada ayam umumnya mikoplasma yang memfermentasi glukosa, sedang yang tidak memfermentasi umumnya tidak merugikan jika berdiri sendiri. Survei lapang untuk mengetahui jenis mikoplasma di beberapa peternakan ayam telah dilakukan di daerah Jawa Barat. Dari hasil survei telah diperoleh beberapa kuman mikoplasma yang memfermentasi glukosa dan yang tidak memfermentasi glukosa. Identifikasi dilakukan dengan uji biokimia dan uji serologi dengan menggunakan beberapa antisera terhadap *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, *Mycoplasma pullorum*, *Mycoplasma coluborale*, *Mycoplasma gallinaceum* dan *Mycoplasma gallinarum*. Hasilnya memperlihatkan 5 isolat mikoplasma yang memfermentasikan glukosa, yaitu *Mycoplasma gallinaceum* sebanyak 4 isolat, *Mycoplasma columberale* 1 isolat. Dari 5 isolat yang tidak memfermentasikan glukosa diidentifikasi sebagai isolat *Mycoplasma gallinarum*.

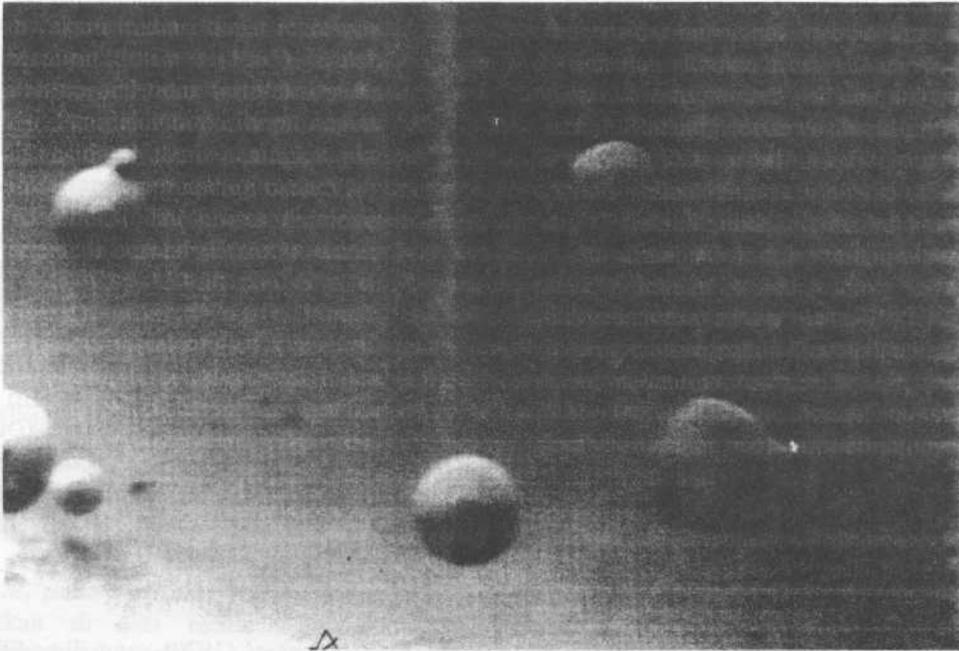
**Kata kunci:** Fermentasi dan non fermentasi glukosa mikoplasma, ayam

### PENDAHULUAN

Mikoplasma merupakan parasit yang bersifat komensal, tetapi ada yang bersifat patogen terhadap induk semangnya baik pada hewan, manusia maupun tanaman (RAZIN dan FREUNDT, 1984). Mikoplasma merupakan organisme prokariotes yang terkecil dengan ukuran penampang sel sebesar 300 - 800 nm. Organisme ini tidak memiliki dinding sel dan tidak mampu mensintesa peptidoglikan (RAZIN dan FREUNDT, 1984; YODER, 1991). Dalam pertumbuhannya organisme ini membutuhkan sterol dan asam lemak dan bersifat fakultatif anerobik. Bentuk koloni sangat spesifik yaitu seperti telur mata sapi (Gambar 1). Dalam mempertahankan kehidupannya, mikoplasma menempel pada permukaan epitel sel (YODER, 1991).

Mikoplasma yang patogen pada unggas adalah *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae* pada ayam dan *Mycoplasma meleagridis* pada kalkun, sedang mikoplasma lainnya tidak patogen (RAZIN dan FREUNDT, 1984; YODER, 1991). Pada unggas organisme ini biasanya menempel/melekat dan membentuk koloni pada permukaan epitel pernafasan dan persendian, jarang menyerang pada bagian organ lain (YODER, 1991). Mikoplasma patogen biasanya mempunyai sifat memfermentasikan glukosa, sedangkan mikoplasma yang tidak patogen bersifat tidak memfermentasikan glukosa (RAZIN dan FREUNDT, 1984). Jenis mikoplasma pada unggas yang bersifat memfermentasikan dan tidak memfermentasikan glukosa dapat dilihat pada Tabel 1.

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui jenis mikoplasma yang diperoleh dari beberapa peternakan ayam di daerah Jawa Barat baik yang bersifat memfermentasi glukosa maupun yang tidak memfermentasi glukosa.



Gambar 1. Bentuk koloni Mycoplasma gallinarum

Tabel 1. Fermentasi dan non fermentasi glukosa mikoplasma

Galur	Memfermentasikan glukosa	Tidak memfermentasikan glukosa
<i>M. gallisepticum</i>	+	-
<i>M. pullorum</i>	+	-
<i>M. gallinaceum</i>	+	-
<i>M. gallopavonis</i>	+	-
<i>M. iowae</i>	+	-
<i>M. synoviae</i>	+	-
<i>M. anatis</i>	+	-
<i>M. columborale</i>	+	-
<i>M. gallinarum</i>	-	+
<i>M. iners</i>	-	+
<i>M. meleagridis</i>	-	+
<i>M. columbinum</i>	-	+
<i>M. columbinasale</i>	-	+

Sumber : RAZIN dan FREUNDT (1984) dan ALUOTTO *et al.* (1970)

## MATERI DAN METODE

### Isolat mikoplasma

Isolat mikoplasma galur *M. gallisepticum* S6 yang diperoleh dari Australia dan 1 isolat lokal MG88016 yang diperoleh dari ayam petelur di daerah Bandung digunakan sebagai kontrol dalam uji biokimia dan uji antisera.

### Mikoplasma media

Media mikoplasma yang digunakan yaitu modifikasi media yang diformulasikan oleh FREY *et al.* (1968). Medium cair terdiri dari Mycoplasma broth base (Gibco), sistein HCl (BDH), thallos aasetat (BDH), merah phenol (Chroma), dan aquabides. Derajat kebasaaan medium diatur mencapai pH 7,8. Medium ini kemudian disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan pada suhu kamar untuk medium cair, sedangkan untuk medium padat dibiarkan di dalam penangas air dengan suhu 50°C. Setelah itu, medium diberi penyubur yang terdiri dari serum babi yang diinaktifkan lebih dahulu pada suhu 56°C selama 30 menit, yeast extract (Difco), DNA (Koch-Light), glukosa (May and Baker) dan amoxycillin (Beecham P.I.). Medium padat komposisinya hampir sama dengan medium cair kecuali glukosa dan merah phenol tidak ditambahkan. Agar yang digunakan untuk medium padat yaitu agar Noble (Difco). Untuk mencegah kontaminasi cendawan, medium diberi actidione (Up-John).

### Uji biokimia

Uji biokimia dilakukan berdasarkan atas metoda ALUOTTO *et al.* (1970) yang dimodifikasi oleh SOERIPTO (1987).

### Utilisasi glukosa dan arginin

Sebanyak 1% (w/v) larutan glukosa atau arginin ditambahkan pada mikoplasma cair. Derajat keasaman (pH) medium glukosa diatur jadi 7,8; sedangkan pH untuk arginin 7,0. Sebanyak 5% kultur yang akan diuji diinokulasikan pada media tersebut. Untuk kontrol disediakan kedua media tersebut tanpa diinokulasi. Uji media dilakukan secara aerobik dan anaerobik yang diinkubasikan pada suhu 37°C selama 3 - 7 hari. Reaksi positif ditandai dengan turunnya pH glukosa sebesar 0,5 atau lebih dibanding kontrol medium. Sebaliknya kenaikan pH 0,5 atau lebih pada media arginin dibandingkan kontrol menunjukkan hasil negatif.

### Reduksi tetrazolium

Sebanyak 0,02 % larutan 2,3,5- triphenyltetrazoliumchloride ditambahkan pada media agar mikoplasma. Kultur yang akan diuji ditanam pada media ini dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 3-7 hari. Reaksi positif ditunjukkan dengan perubahan warna kemerahan.

### Aktivitas fosfatase

Kultur yang akan diuji diinokulasikan pada media agar yang mengandung 0,01% (w/v) sodium salt phenolphthalein, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 3-7 hari. Setelah koloni tumbuh kemudian agar disiram dengan 5M NaOH. Reaksi positif ditunjukkan dengan perubahan warna merah.

### Formasi film dan spot

Kultur yang akan diuji ditanam pada media agar yang mengandung 10% larutan kuning telur, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 3 - 7 hari. Reaksi positif ditandai dengan adanya formasi kerutan-kerutan film disekitar koloni dan adanya warna kehitaman pada atau dibawah koloni.

### Uji haemadsorption

Uji ini dilakukan seperti diuraikan oleh MANCHEE dan TAYLOR ROBINSON (1968). Sebanyak 0,5% konsentrasi sel darah merah ayam dalam PBS dituangkan pada media agar yang telah ditumbuhi dengan biakan mikoplasma yang akan diuji. Media kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C. Setelah 30 menit, dicuci dengan PBS kemudian dilihat dibawah mikroskop. Hasil positif ditandai adanya absorpsi sel darah merah pada koloni mikoplasma.

### Identifikasi secara serologi

Uji ini dilakukan dengan metode *growth inhibition test* yang diuraikan oleh CLYDE, JR. (1983). Kultur mikoplasma dalam media cair yang berisi kuman  $10^5$  CFU/ml dituang sampai merata pada permukaan media mikoplasma agar dan dibiarkan selama 5 menit agar permukaan media agak kering. Kertas cakram yang telah diisi dengan antisera terhadap *M. gallisepticum* ( $\alpha$ A), *M. pullorum* ( $\alpha$ C), *M. gallinaceum* ( $\alpha$ D), *M. columborale* ( $\alpha$ Co), atau *M. synoviae* ( $\alpha$ S) diletakkan di atas media agar yang telah diberi kultur mikoplasma yang bersifat memfermentasikan glukosa. Kertas cakram yang berisi antisera terhadap *M. gallinarum* ( $\alpha$ B) diletakkan di atas media agar yang telah diberi kultur mikoplasma yang bersifat tidak memfermentasikan glukosa. Media agar yang telah diberi biakan mikoplasma dan kertas cakram yang diberi antisera tersebut kemudian diinkubasikan secara mikroaerophilik pada suhu 37°C dan diamati sampai kuman mikoplasma tumbuh sehingga terlihat daerah hambatan pertumbuhan.

## HASIL

Hasil uji biokomia dapat di lihat pada Tabel 2. dari 10 isolat lapang yang diuji diperoleh 5 isolat yang memfermenmtasikan glukosa yaitu SB 1a, SB 2, SB 3, TGR 3, dan KR 1, dan 5 isolat yang tidak memfermentasikan glukosa yaitu SB 1b, TGR 1, TGR 2, TGR 4, dan KR 2.

Untuk mengetahui lebih lanjut mikoplasma dilakukan uji serologi yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 3. Isolat yang memfermentasikan glukosa tidak dilakukan pengujian terhadap antisera *M. gallinarum*, sedang isolat yang tidak memfermentasikan glukosa tidak dilakukan pengujian terhadap antisera *M. gallisepticum*, *Mycoplasma pullorum*, *M. synoviae*, *M. columborale* dan *Mycoplasma gallinaceum* sebanyak 4 isolat dan 1 isolat *M. columborale*.

## PEMBAHASAN

Seperti dikatakan oleh RAZIN and FREUNDT (1984) bahwa mikoplasma merupakan parasit yang bersifat komensalis atau saprofit tetapi ada juga yang bersifat patogen. Pada penelitian ini dapat diidentifikasi 3 isolat mikoplasma yaitu *M. gallinaceum* dan *M. columborale* yang bersifat memfermentasikan glukosa, dan *M. gallinarum* yang bersifat tidak memfermentasikan glukosa. Tidak ditemukannya galur *M. gallisepticum* atau *M. synoviae* pada penelitian ini kemungkinan karena infeksi *M. gallisepticum* atau *M. synoviae* pada saat survai dilakukan tidak terjadi di

lapang. Pada saat pengambilan sampel semua ayam tidak memperlihatkan gejala kesulitan pernafasan secara klinis atau radang persendian.

Tabel 2. Hasil uji biokimia terhadap beberapa isolat mikoplasma

Kode isolat	Ferment glukosa	Hidrolis arginin	Reduksi tetrazol	Aktivitas phosphat	Film dan spots	Hem absorpsi
SB 1a	+	-	-	-	-	+
SB 1b	-	-	-	-	+	-
SB 2	+	-	-	-	-	-
SB 3	+	-	+	+	+	-
TGR 1	-	+	+	+	+	+
TGR 2	-	-	-	+	+	-
TGR 3	+	-	-	-	+	+
TGR 4	-	-	+	+	+	+
KR 1	+	-	+	-	-	-
KR 2	-	+	+	-	+	+
S 6	+	-	+	-	-	+
MG 88016	+	-	+	-	-	+

Keterangan : + = reaksi positif, - = reaksi negatif  
S 6 dan MG 88016 = kontrol *M. gallisepticum*

Tabel 3. Hasil uji antisera terhadap beberapa isolat mikoplasma

No.	Kode isolat	$\alpha$ A	$\alpha$ B	$\alpha$ C	$\alpha$ D	$\alpha$ I	$\alpha$ S
1.	SB 1a	-	td	-	+	-	-
2.	SB 1b	td	+	td	td	td	td
3.	SB 2	-	td	-	+	-	-
4.	SB 3	-	-	-	+	-	-
5.	TGR 1	td	+	td	td	td	td
6.	TGR 2	td	+	td	td	td	td
7.	TGR 3	-	td	-	+	-	-
8.	TGR 4	td	+	td	td	td	td
9.	KR 1	-	td	-	-	-	-
10.	KR 2	td	+	td	td	td	td
11.	S6	+	td	-	-	-	-
12.	MG 88016	+	td	-	-	-	-

Keterangan : td = tidak dilakukan  
+ = ada zona hambat  
- = tidak ada zona hambat  
 $\alpha$ B = antisera *M. gallinarum*  
 $\alpha$ C = antisera *M. pullorum*  
 $\alpha$ S = antisera *M. synoviae*  
 $\alpha$ A = antisera *M. gallisepticum*  
 $\alpha$ Co = antisera *M. columborale*  
 $\alpha$ D = antisera *M. gallinaceum*

*Mycoplasma gallinaceum* adalah mikoplasma pada ayam yang bersifat memfermentasikan glukosa tetapi tidak patogen. Penemuan ini sejalan dengan informasi yang telah diuraikan oleh JORDAN (1979). Menurut JORDAN (1979) *Mycoplasma columborale* merupakan mikoplasma yang diisolasi dari burung merpati, tetapi pada penelitian ini *Mycoplasma columborale* dapat diisolasi dari ayam dan bersifat tidak patogen

Yang menarik lagi dalam penelitian ini yaitu ditemukannya infeksi mikoplasma lebih dari 1 galur. Hal ini perlu mendapatkan perhatian karena pada kondisi yang kondusif mix infeksi khususnya dengan infeksi bakterial dapat menimbulkan peradangan pada kantong membran udara seperti dilaporkan oleh BRADBURY (1984). Jika peradangan ini berlanjut akan menimbulkan gejala klinis yang pada akhirnya akan menimbulkan kerugian ekonomi bagi peternak.

### KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa *Mycoplasma gallinaceum* dan *Mycoplasma columborale* yang bersifat memfermentasikan glukosa dan *Mycoplasma gallinarum* yang tidak memfermentasikan glukosa dapat diisolasi dari ayam yang secara klinis tidak memperlihatkan gejala sakit. Hasil ini juga memperlihatkan bahwa tidak semua mikoplasma yang memfermentasikan glukosa merupakan mikoplasma yang patogen. Pada penelitian ini juga diperlihatkan bahwa infeksi lebih dari jenis mikoplasma dapat dijumpai pada ayam di lapang. *Mycoplasma columborale* selain dapat diisolasi dari burung merpati juga dapat diisolasi dari ayam.

### DAFTAR PUSTAKA

- ALLUOTTO, B.B., R.G. WHITLER, C.O. WILLIAMS, and J.E. FABER. 1970. Standardized bacteriologic techniques for the characterization of mycoplasma species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 20: 35 - 58
- BRADBURY, J.M. 1984. Avian mycoplasma infections: Prototype of mixed infections with mycoplasmas, bacteria and viruses. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)* 135 A: 83 - 89
- CLYDE JR, W.A. 1983. Growth inhibition test. In: *Methods in Mycoplasmaology*. Volume 1. Edit. By Samuel RAZIN and Joseph G. Tully. Acad. Press. New York, London, Toronto. pp. 405 - 410.
- FREY, M.C., R.P. HANSON, and D.P. ANDERSON. 1968. A medium for the isolation of avian mycoplasma. *Am. J. Vet. Res.* 29: 2164 - 2171.
- JORDAN, F.T.W. 1979. Avian Mycoplasmas. In: *The Mycoplasmas Vol. II. Human and Animal Mycoplasmas*. Edit by J.G. Tully and R.F. Whitcomb. Acad. Press. New York, San Francisco, London. pp. 1-48.
- KLEVEN, S.H., G.N. ROWLAND, and N.O. OLSON. 1991. *Mycoplasma synoviae* infection. In: *Diseases of Poultry*. 9th ed. B.W. Calnek, H.J. Barnes, C.W. Beard W.M. Reid and H.W. Yoder Jr., eds. Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa. pp. 223 - 231.
- MANCHEE, R.J. and D. TAYLOR-ROBINSON. 1968. Haemadsorption and haemagglutination by mycoplasma. *J. Gen. Microbiol.* 50: 465 - 478.
- RAZIN, S. and E.A. FREUNDT. 1984. The Mycoplasmas. In: *Bergey'S Manual of Systemic Bacteriology*. Volume 1. Edit by N.R. Krieg and J.G. Holt. Williams and Wilkins. Baltimore/ London. pp. 740 - 793
- SOERIPTO. 1987. Pathogenicity and Immunogenicity of *Mycoplasma gallisepticum*. PhD. thesis 1987.
- YODER, H.W., Jr. 1991. Mycoplasmosis In: *Diseases of Poultry*. 9th ed. B.W. Calnek, H.J. Barnes, C.W. Beard W.M. Reid and H.W. Yoder Jr., eds. Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa. pp. 196 - 198.
-