

Isolasi dan Identifikasi *Enterobacter spp.* pada Anjing Diare

(ISOLATION AND IDENTIFICATION OF ENTEROBACTER SPP. IN DOG DIARRHEA)

Matilda Krisnawati^{1*}, I Gusti Ketut Suarjana², Ketut Tono Pasek Gelgel²

¹Mahasiswa Sarjana Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, JL. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia;

²Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, JL. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia.

*Email: matildakrisnawati@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi *Enterobacter spp.* dari saluran pencernaan anjing yang mengalami diare. Diare merupakan penyakit pencernaan yang umum menyerang anjing yang salah satunya dapat disebabkan oleh *Enterobacter spp.* Penelitian ini menggunakan 48 sampel berupa swab rektal anjing diare yang berasal dari daerah Denpasar dan sekitarnya. Sampel diisolasi pada media *Eosin Methylene Blue Agar*, *MacConkey* dan *Blood Agar* dengan metode streak lalu diinkubasikan selama 24 jam dengan suhu 37°C, lalu dilakukan uji primer yaitu pewarnaan gram, uji katalase, dan uji oksidase, serta dilakukan uji identifikasi pada media *Triple Sugar Iron Agar*, *Simon Citrate Agar*, *Sulfide Indol Motility*, *Methyl Red Voges Proskauer*, dan uji gula-gula. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ditemukan dua (4,16%) sampel positif *Enterobacter spp.* pada anjing diare. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa *Enterobacter spp.* dapat diisolasi dan diidentifikasi pada saluran pencernaan anjing yang mengalami diare. Namun, perlu dilakukan uji identifikasi untuk setiap spesies *Enterobacter* dan penelitian lebih mendalam tentang kemampuan patogenisitas *Enterobacter spp.*

Kata kunci: Anjing; diare; *Enterobacter spp.*

Abstract

This study aims to isolate and identify *Enterobacter spp.* from the digestive tract of dogs with diarrhea. Diarrhea is a digestive disease that commonly attacks dogs, one of which can be caused by *Enterobacter spp.* This study using 48 samples in the form of a dog with diarrhea rectal swabs from Denpasar and surrounding areas. The samples were isolated on Eosin Methylene Blue Agar, MacConkey, and Blood Agar media by streak method and then incubated for 24 hours at 37°C, then primary tests were carried out, namely gram staining, catalase test, and oxidase test, and identification tests were carried out on Triple media. Sugar Iron Agar, Simon Citrate Agar, Sulfide Indole Motility, Methyl Red Voges Proskauer, and sugar test. The results showed that two (4.16%) positive samples of *Enterobacter spp.* diarrhea in dogs. Therefore it can be concluded that *Enterobacter spp.* can be isolated and identified in the digestive tract of dogs with diarrhea. However, it is necessary to carry out identification test for each *Enterobacter* species and more in-depth research on the pathogenicity of *Enterobacter spp.*

Keywords: Dog; diarrhea; *Enterobacter spp.*

PENDAHULUAN

Anjing merupakan salah satu hewan domestik yang banyak digemari manusia sebagai hewan kesayangan. Peningkatan populasi dan tata cara pemeliharaan anjing

perlu diperhatikan karena sangat mempengaruhi kelangsungan hidupnya (Kakang *et al.*, 2017). Anjing yang terawat dengan baik tidak akan terserang penyakit dengan mudah (Saputra, 2016). Diare

merupakan salah satu masalah pencernaan yang sering menyerang anjing dan apabila tidak ditangani dengan baik maka akan menyebabkan dampak yang fatal (Hubbard *et al.*, 2007). Diare adalah suatu gejala penyakit yang berupa perubahan frekuensi defekasi, konsistensi feses, dan gerak peristaltik usus (Chandler, 2011). Pada anjing, diare dapat disebabkan oleh bahan non infeksius seperti intoleransi pakan dan obat, serta bahan infeksius terdiri dari virus, bakteri, parasit, dan fungi (Indarjulianto *et al.*, 2021).

Bakteri yang dapat menyebabkan diare salah satunya adalah *Enterobacter spp* yang merupakan bakteri family *Enterobacteriaceae*, Gram negatif, berbentuk batang/basil, tidak membentuk spora, bersifat fakultatif anaerob, mampu memfermentasikan laktosa, memiliki flagella, dan bersifat motil. *Enterobacter spp.* secara normal ditemukan dalam saluran pencernaan hewan, namun dapat menjadi patogen oportunistik. Hartel *et al.* (2004) mengatakan bahwa oleh karena tergolong patogen oportunis, maka bakteri ini dapat menjadi ancaman penyakit baik pada hewan maupun manusia. *Enterobacter spp.* memiliki spesies yang bersifat patogen dan tidak patogen. *Enterobacter spp.* yang bersifat patogen ialah *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter gergoviae*, dan *Enterobacter agglomeras*. *Enterobacter spp.* merupakan patogen penyebab infeksi nosokomial yang salah satunya dapat disebabkan oleh flora normal dari pasien itu sendiri (*endogenous infection*); dan bertanggung jawab untuk berbagai infeksi diantaranya infeksi saluran pernafasan, infeksi saluran kemih, sepsis, infeksi intraabdominal, infeksi kulit dan jaringan lunak, infeksi mata dan infeksi saluran pencernaan (Riga *et al.*, 2015). Penelitian tentang isolasi dan identifikasi *Enterobacter spp.* pada anjing yang mengalami diare juga belum banyak dilaporkan.

METODE PENELITIAN

Objek Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berupa swab rectal anjing yang mengalami diare sebanyak 48 sampel yang berasal dari daerah Denpasar dan sekitarnya.

Pengambilan Sampel

Sampel diambil dengan melakukan swab rectal pada anjing yang mengalami diare secara aseptis, kemudian dimasukkan pada media *transport* yaitu *stuart agar* lalu disimpan dalam *cool box* steril.

Isolasi dan identifikasi bakteri

Isolasi bakteri

Isolasi bakteri dilakukan pada media selektif diferensial. Sampel hasil swab rectal ditanam pada media EMBA, *MacConkey* dan *Blood Agar* menggunakan metode *streak*, lalu diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan secara makroskopis dilakukan berdasarkan ciri-ciri morfologi koloni yaitu warna, bentuk, diameter, dan elevasi.

Pewarnaan Gram

Isolat yang dicurigai atau menunjukkan ciri seperti *Enterobacter spp.* diinokulasikan menggunakan ose steril keatas kaca objek kemudian difiksasi. Setelah itu, teteskan kristal violet sebanyak 1-2 tetes ke permukaan preparat yang terdapat lapisan bakteri tersebut dan didiamkan selama 1-2 menit lalu dibilas dengan air dan dikeringkan. Kemudian ditetesi 1-2 tetes lugol dan diamkan selama 1-2 menit lalu dibilas dan dikeringkan. Preparat tersebut kemudian ditetesi alkohol 96% sebanyak 1-2 tetes selama 30 detik lalu dibilas dengan air dan dikeringkan. Setelah itu, teteskan safranin sebanyak 1-2 tetes dan diamkan selama 1-2 menit lalu dibilas dengan air dan dikeringkan. Kemudian, preparat dilakukan pengamatan secara mikroskopis menggunakan mikroskop dengan pembesaran 1000x.

Uji Katalase

Uji ini dilakukan dengan meneteskan 1-2 tetes H₂O₂ 3% pada isolat yang akan diuji yang telah diletakkan diatas obyek glass steril, menggunakan osa steril. Kemudian amati perubahannya. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gelembung.

Uji Oksidase

Letakkan koloni bakteri yang hendak diuji menggunakan osse steril diatas paper oksidase. Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna pada oksidase strip menjadi ungu kebiruan dalam waktu 1-2 menit (Prescott, 2002).

Identifikasi Bakteri

Bakteri yang sudah diisolasi kemudian diidentifikasi menggunakan media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), SIM (*Sulfide Indol Motility*), SCA (*Simon Citrat Agar*), MRVP (*Methyl Red Voges Proskauer*), serta uji Gula-gula (glukosa, laktosa, manitol, arabinosa).

Analisis Data

Data tentang jumlah *Enterobacter spp.* yang diisolasi dan identifikasi pada saluran pencernaan anjing penderita diare dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri

Pada media EMBA *Enterobacter spp.* menunjukkan warna merah muda, berbentuk bulat, diameter 2-3 mm, dan elevasi cembung. EMBA merupakan media selektif untuk bakteri Gram negatif yang mengandung laktosa untuk memilah bakteri yang memfermentasikan laktosa. *Enterobacter spp.* merupakan salah satu bakteri yang dapat memfermentasi laktosa maka berdasarkan penelitian lainnyapun ia akan menghasilkan koloni berwarna merah muda.

Sedangkan pada *MacConkey* menunjukkan koloni yang tampak tidak berwarna (*colorless*), berbentuk bulat, diameter 1-2 mm, dan elevasi cembung. *MacConkey* merupakan media selektif dan

diferensial yang digunakan untuk mengisolasi bakteri Gram negatif. Belouahad (2022) mengungkapkan bahwa *Enterobacter spp.* yang memfermentasikan laktosa dengan lambat pada MCA akan menunjukkan koloni yang tidak berwarna. Kurangnya kandungan laktosa dimana laktosa bukan satu-satunya sumber karbon dari media yang digunakan juga dapat memicu hal tersebut. Apabila satu media menggunakan laktosa sebagai satu-satunya sumber karbon maka akan memfermentasikan laktosa dengan cepat begitupun sebaliknya (Goodman dan Picket, 1966).

Pada *Blood Agar Plate* (BAP), *Enterobacter spp.* berbentuk bulat, berwarna putih keabuan, sedikit mukoid, dan elevasi cembung. *Blood agar* merupakan media yang digunakan untuk bakteri yang memiliki kemampuan melisiskan sel darah merah (Puspitasari, 2021). Koloni mukoid yang ditunjukkan dikarenakan *Enterobacter spp.* memiliki kapsul lipopolisakarida. Kapsul yang dimiliki *Enterobacter spp.* lebih kecil dibanding *Klebsiella spp.* sehingga menyebabkannya sedikit mukoid.

Pewarnaan Gram

Dalam pewarnaan Gram menunjukkan morfologi bakteri secara mikroskopis dengan hasil berbentuk batang/basil dan berwarna merah muda yang menandakan bakteri tersebut adalah bakteri Gram negatif. Warna merah yang ditunjukkan dikarenakan bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis dan permeabilitas yang cukup tinggi sehingga mudah melepas zat berwarna kristal violet dan bakteri hanya menyerap zat safranin.

Uji Katalase

Uji katalase *Enterobacter spp.* memberikan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya gelembung. Hal ini menandakan bahwa *Enterobacter spp.* mampu memecah hidrogen peroksida menjadi dihidrogen oksida (H₂O) dan oksigen (O₂) dan bakteri tersebut positif menghasilkan enzim katalase (PHE, 2015).

Uji Oksidase

Uji oksidase *Enterobacter spp.* menunjukkan hasil negatif yang ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna pada oksidase strip yang menandakan bahwa *Enterobacter spp.* tidak mampu menghasilkan enzim oksidase. Menurut Jawetz et al. (2007) enzim oksidase berperan dalam mengkatalisis proses oksidase dan reduksi.

Identifikasi Bakteri

Pada uji TSIA, menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan warna kuning pada bagian *slant* dan *butt* media. Hasil tersebut menandakan bahwa *Enterobacter spp.* mampu memfermentasikan laktosa, dan sukrosa (Wahyuni et al., 2018). Akan tetapi *Enterobacter spp.* tidak memproduksi H₂S dan gas. Hasil positif pada motiliti menandakan bakteri dapat bergerak sedangkan negatif indol menandakan *Enterobacter spp.* tidak mampu mendegradasi asam amino triptofan. Kemudian pada uji SCA menunjukkan hasil positif menandakan bahwa *Enterobacter spp.* mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi (Wahyuni et al., 2018). Pada uji *Metyl red* hasil positif menunjukkan bahwa *Enterobacter spp.* mampu mengubah glukosa menjadi asam seperti asam laktat, asam asetat, atau asam format. Sedangkan hasil negatif *Voges Proskauer* menandakan *Enterobacter spp.* tidak mampu mengubah glukosa menjadi asam karbinol. Lalu pada uji gula-gula, *Enterobacter spp.* menunjukkan hasil positif laktosa, manitol dan arabinosa yang menandakan bahwa bakteri ini mampu mendegradasi dan menghasilkan asam dari ketiga gula tersebut.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa *Enterobacter spp.* dapat diisolasi dan diidentifikasi pada saluran pencernaan anjing yang

mengalami diare dengan ditemukan dua (4,16%) sampel positif.

Saran

Perlu dilakukan uji identifikasi untuk setiap spesies *Enterobacter.* dan penelitian lebih mendalam tentang kemampuan patogenisitas *Enterobacter spp.*

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kepada Laboratorium Mikrobiologi dan Bakteriologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, staf Balai Besar Veteriner Denpasar dan semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Belouahad. 2022. ONPG Test. <https://microbiologie-clinique.com/macconkey-agar.html>.
- Chandler, M. 2011. *Solutions in veterinary practice: small animal gastroenterology*. London. Elsevier. Pp 113.
- Goodman RE, Pickett MJ. 1966. Delayed lactose fermentation by Enterobacteriaceae. *J. Bacteriol.* 92 (2): 318-327.
- Hartel H, Nikunen S, Neuvonen E, Tanskanen R, Kivela S, Aho P, Soveri T, Saloniemi H. 2004. Viral and bacterial pathogens in bovine respiratory disease in Finland. *Acta Vet. Scandinavica.* 45: 193-200.
- Hubbard, Skelly K, McKelvie BJ, Wood JLN. 2007. *Risk of vomiting and diarrhoea in dogs*. *Vet. Rec.* 161(22): 755-757.
- Indarjulianto S, Widyarini S, Suparta GB, Nururrozi A, Yanuartono, Raharjo S, Sitompul YY, Tidariani I, Ekawati A, Nalasukma MC. 2021. Pemilihan antibiotika pada anjing diare yang terinfeksi *Escherichia coli*. *J. Sains Vet.* 39(1): 47-54
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 200. Mikrobiologi kedokteran. EGC Press. Jakarta.

- Kakang DM, Batan IW, Nindhia TS. 2017. Pemeliharaan anjing oleh masyarakat kota Denpasar yang berkaitan dengan faktor risiko rabies. *Indon. Med. Vet.* 6(2): 138-152.
- Prescott HK. 2002. *Laboratory exercise in microbiology. The Mc Gram Hill Companies.* New York. Pp. 126-139.
- Public Health England (PHE). 2015. Identification of *Enterobacteriaceae*. UK standards for microbiology investigations (Smis).
- Puspitasari AI. 2021. Penggunaan media agar darah manusia untuk pertumbuhan bakteri golongan beta hemolisa. Tesis. Surabaya: Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya.
- Riga PN, Buntuan V, Rares F. 2015. Isolasi dan identifikasi bakteri aerob yang dapat menyebabkan infeksi nosokomial di ruangan instalasi gizi

Blu Rsup Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *J. e-Biomedik (eBm).* 3(1): 227-235.

- Saputra CFL. 2016. Implementasi konsep wild into coziness pada perancangan interior *dog daycare center* di Surabaya. *J. Intra.* 4(2): 423-434
- Suarnata IW, Suarjana IGK, Rompis ALT. 2018. *Enterobacter sp.* pada sapi Bali menurut geografis dan tingkat kedewasaan serta pola kepekaannya terhadap antibiotika. *Bul. Vet. Udayana.* 10(2): 154-161.
- Wahyuni RM, Sayuti A, Abrar M, Erina, Hasan M, Zainuddin. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri enterik patogen pada badak Sumatera (*Dicerorhinus Sumatrensis*) di Suaka Rhino Sumatera (Srs), Taman Nasional Way Kambas (Tnwk), Lampung. *JIMVET.* 4(2): 474-487.



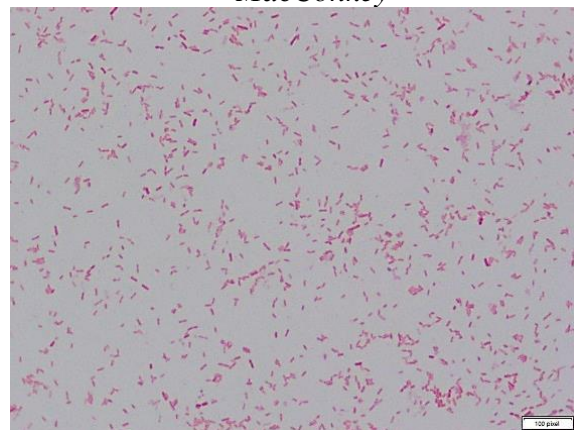
Gambar 1. Pertumbuhan bakteri pada media EMBA



Gambar 2. Pertumbuhan bakteri pada media *MacConkey*



Gambar 3. Pertumbuhan bakteri pada media *Blood Agar*



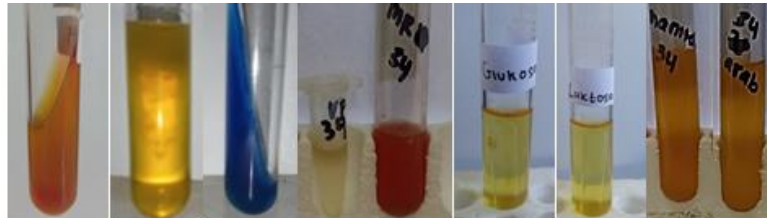
Gambar 4. Hasil pewarnaan gram dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000x



Gambar 5. Hasil uji katalase *Enterobacter* spp.



Gambar 6. Hasil uji oksidase *Enterobacter* spp.



Gambar 7. Hasil uji TSIA (+); SIM (Indol (-) Motyl (+); SCA (+); MRVP (MR (+) VP(-); Uji gula-gula (+)