

Penelitian

Isolasi dan Identifikasi *Salmonella* spp. pada Kloaka Kura-Kura Ambon (*Cuora amboinensis*)

(Isolation and Identification of *Salmonella* spp. in Cloaca of Southeast Asian Box Turtle (*Cuora amboinensis*))

Fia Rahmatul Khair¹, Erina^{2*}, Sugito³, M. Daud AK²

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala

²Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala

³Laboratorium Klinik dan Bedah, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala

*Penulis untuk korespondensi: erina@unsyiah.ac.id

Diterima 20 April 2021, Disetujui 2 Oktober 2021

ABSTRAK

Salmonellosis merupakan penyakit enterik yang disebabkan oleh berbagai jenis spesies *Salmonella* spp. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi spesies *Salmonella* spp pada kloaka kura-kura ambon (*Cuora amboinensis*). Koleksi sampel dilakukan pada lima belas ekor kura-kura ambon yang berada di kota Banda Aceh dan sebagian Aceh Besar. Penelitian ini merupakan observasi lapangan dan eksperimental laboratorium berdasarkan metode Carter. Swab kloaka kura-kura ambon ditanam dalam media *Selenite Cystine Broth* (SCB) dan diinkubasikan selama 24 jam suhu 37°C, jika terjadi perubahan warna menjadi orange dilanjutkan penanaman pada media *Salmonella Shigella Agar* (SSA). Koloni yang menunjukkan karakteristik *Salmonella* sp diamati warna, elevasi, ukuran, dan tepi secara makroskopik. Pewarnaan Gram dilakukan untuk pengamatan secara mikroskopis dan pengelompokan bakteri. Proses identifikasi *Salmonella* spp dilakukan dengan penanaman dalam media *Indol*, *Methyl Red*, *Voges Proskauer*, *Sulfide Indole Motility* (SIM), *Simmons Citrate Agar* (SCA), *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), uji biokimia (glukosa, sukrosa, laktosa, manitol, dan arabinosa). Penelitian ini dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada lima belas sampel swab kloaka kura-kura ambon (100%) positif *Salmonella* yang terdiri atas *Salmonella bongori*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella diarizonae*, dan *Salmonella indica*. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa *Salmonella bongori*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella diarizonae*, dan *Salmonella indica* dapat diisolasi dari kloaka kura-kura ambon.

Kata kunci : Foodborne disease, hewan eksotik, *Salmonella* spp., penyakit zoonosis

ABSTRACT

Salmonellosis is an enteric disease caused by various types of *Salmonella*. This study aims to isolate and to identify *Salmonella* species in southeast asian box turtles. The sample collection was carried out on fifteen southeast asian box turtles around the Banda Aceh and Aceh Besar area. This study was a field observational and experimental laboratory based on Carter's method. Cloacal swabs were planted in *Selenite Cystine Broth* (SCB) and incubated for 24 hours at 37° C. In case, the color turns to orange, it will be followed by planting on *Salmonella Shigella Agar* (SSA). The colony with *Salmonella* characteristic was observed macroscopically for color elevation, size, and edges. Gram staining is carried out for microscopic observation and bacterial grouping. Identification for *Salmonella* is planted in indole, methyl red, *Voges Proskauer*, sulfide indole motility (SIM), *Simmons citrate agar* (SCA), *triple sugar iron agar* (TSIA), and biochemistry test (glucose, sucrose, lactose, mannitol, and arabinose). This study was analyzed descriptively and presented in tables and figures. The results of this study indicate that fifteen of southeast asian box turtle (100%) positive *Salmonella* consist of *Salmonella bongori*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella diarizonae*, and *Salmonella indica*. Therefore, it can be concluded that *Salmonella bongori*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella diarizonae*, and *Salmonella indica* can be isolated from the cloaca of southeast asian box turtle.

Keywords: exotic animals, food borne disease, *Salmonella* spp., zoonotic disease

PENDAHULUAN

Salmonellosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh berbagai spesies salmonella. Salmonellosis non-tifoid diderita oleh sekitar 200 juta sampai 1,3 miliar orang di seluruh dunia, dengan kematian 3 juta jiwa setiap tahun. Salmonellosis dapat ditularkan melalui beberapa hewan diantaranya, kuda, sapi, babi, dan reptil (Soedarto, 2012). *Salmonella* sp. dapat juga tersebar di lingkungan yang berhubungan dengan peternakan atau pembuangan tinja manusia. Penyakit salmonellosis berkembang di lingkungan dengan sanitasi kurang baik (Soeharsono, 2002).

Kura-kura merupakan salah satu peliharaan populer yang sering dihadiahkan untuk anak-anak. Selain dapat ditempatkan dalam kontainer berukuran kecil, tidak berisik, tidak menggigit, kura-kura juga hanya membutuhkan porsi makanan yang sedikit (William dan Heldson, 1965). Masyarakat lokal Indonesia memanfaatkan kura-kura darat atau turpepel sebagai salah satu sumber protein hewani. Pemanfaatan ini dilakukan terutama saat sumber protein hewani dari daging sapi atau ikan sulit didapatkan (Apriani et al., 2015). Kura-kura ambon (*Cuora amboinensis*) berpotensi sebagai sumber penularan penyakit salmonellosis pada manusia (Erina et al., 2019).

Kura-kura dan reptil lainnya merupakan reservoir salmonella (Kauffman dan Morrison, 1966; Marin et al., 2013) dan sering dikaitkan dengan kejadian salmonellosis pada manusia terutama anak-anak semenjak tahun 1963 berdasarkan laporan dari Hersey dan Mason. Pada tahun 1970-1971 terjadi hingga 280.000 kasus salmonellosis terkait kura-kura di USA (Lamm et al., 1972) dua belas kasus di New York (Ackman et al., 1995) 339 kasus antara 1990-2000 (Jong et al., 2005) dan 5.139 orang terinfeksi di Swedia (Ternhag et al., 2006). *Salmonellae* menjadi salah satu patogen paling penting di Inggris dan Wales dari tahun 1992-2000 (Adak et al., 2002). Sebuah penelitian di Jepang menunjukkan 130 dari 227 kura-kura yang diteliti positif *Salmonella enterica* subsp. *enterica*. Hasil ini berpeluang menjadi wabah salmonellosis pada manusia terkait kepemilikan kura-kura (Kuroki et al., 2019). Terdapat dua dari empat puluh ekor reptil positif *Salmonella* sp. pada sebuah pet shop di Bogor (Arnafia et al., 2016) Semua sampel kura-kura yang dikoleksi dari pet shop yang berada di daerah Puerto Rico menunjukkan hasil positif *Salmonella* (Tauxe et al., 1985) 3,8% dari 79 ekor kura-kura yang diteliti positif *Salmonella* di Kroasia. Peningkatan jumlah pemeliharaan reptil berbanding lurus dengan peningkatan kasus salmonellosis

pada manusia (Gras et al., 2015; Lukac et al., 2015).

Infeksi *Salmonella* umumnya terjadi melalui *foodborne*, bahkan *Salmonella* sp. merupakan 90% penyebab keracunan makanan di Inggris (Soeharsono, 2002). Namun, 11% infeksi *Salmonella enterica* dapat berasal dari hewan yang terpapar (Scallan et al., 2011; Hale et al., 2012; Bosch et al., 2016) dan lebih banyak menyerang anak-anak daripada orang dewasa (Angulo dan Swerdlow, 1995; Mermitt et al., 1997; CDSUMMARY, 2008; Pickering et al., 2008). *Salmonella* dapat ditemukan di lingkungan tempat pemeliharaan reptil (Wikstrom et al., 2014; Yenni et al., 2017) dan telur kura-kura (Aoust et al., 1990; Shane et al., 1990; Mitchell et al., 2007), sehingga memelihara reptil berisiko terhadap kesehatan manusia maka penting bagi pihak berwenang untuk memberikan informasi kepada publik (Sa dan Solari, 2001). Tahun 1975, *Food and Drug Administration* (FDA) Amerika Serikat mengeluarkan aturan pelarangan penjualan dan pendistribusian kura-kura dengan ukuran karapas <4 inci atau <10,16 cm (USFDA, 2019) peraturan pelarangan ini juga diterapkan pada sistem impor kura-kura di Kanada (Woodward et al., 1997).

Tahun 1996, dewan penasihat industri hewan peliharaan Amerika Serikat berkolaborasi dengan *the Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) meluncurkan sebuah program pendidikan untuk pencegahan salmonellosis pada manusia terkait reptil (Bradley et al., 2001). Informasi mengenai keberadaan *Salmonella* sp. pada kloaka kura-kura masih sangat terbatas di Indonesia sehingga diperlukan penelitian untuk mendapatkan informasi sehingga dapat digunakan sebagai upaya pencegahan dan pengendalian salmonellosis pada manusia.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri (Pyrex[®]), *object glass*, tabung reaksi (Pyrex[®]), *erlenmeyer glass* (Pyrex[®]), *cotton swab* steril, ose sengkeli, ose jarum, inkubator (Memmert[™]), mikroskop (Olympus[™]), rak tabung reaksi, *waterbath* (Memmert[™]), *hotplate* (Heidolph[®]), timbangan digital (Ohaus[®]), sendok porselen, spatula, gelas ukur (Pyrex[®]), lampu spiritus, kapas, pipet tetes, *handscoon*, tisu, termos es, dan masker.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alkohol 70 %, alkohol 96%, *methylen blue*, safranin, lugol, akuades, *crystal violet*, *salmonella shigella*

agar (Oxoid™), selenite cystine broth (Oxoid™), nutrient agar miring (Oxoid™), bahan untuk uji IMVIC antara lain indol (Difco™), methyl red (Oxoid™), voges proskauer (Oxoid™), sulfide indole motility (Oxoid™), Simmons citrate (Oxoid™), triple sugar iron agar (Oxoid™), media untuk uji uji biokimia (glukosa (Merck™), sukrosa (Merck™), laktosa (Merck™), manitol (Merck™) dan arabinosa (Merck™)), reagen Kovacs, reagen methyl red, reagen α -Naphthol 5%, KOH 40%, dan minyak emersi.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan observasi lapangan dan eksperimental laboratorium berdasarkan metode Carter 1987.

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel

Sampel berasal dari swab kloaka kura-kura ambon yang diambil dengan swab steril. Selanjutnya, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi Selenite Cystine Broth (SCB) dan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C.

Isolasi dan Identifikasi *Salmonella* sp.

Perubahan warna pada media SCB dapat diamati setelah 24 jam inkubasi. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi orange. Selanjutnya dilakukan penanaman pada media SSA dan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Morfologi koloni yang tumbuh pada media SSA kemudian diamati dan selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram. Identifikasi bakteri dilakukan dengan penanaman pada media Indol, Methyl Red, Voges Proskauer, Sulfide Indole Motility, Simmons Citrate (IMVIC) untuk media Methyl Red diinkubasikan selama 48 jam, Triple Sugar Iron Agar (TSIA), dan uji biokimia (glukosa, sukrosa, laktosa, manitol dan arabinosa) diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

Analisis Data

Data hasil pengamatan dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.

HASIL

Hasil pengamatan pada media SCB menunjukkan perubahan warna media menjadi orange dan keruh (Gambar 1 dan Tabel 1). Hal ini sesuai dengan pernyataan Scharlau (2009) SCB merupakan media pengayaan untuk isolasi *Salmonellae* (Bailey et al., 1981). Penambahan cystine mengurangi toksisitas dari selenite terhadap mikroorganisme (Bridson, 2006) sehingga media menjadi selektif (Corry et al., 2003). Selanjutnya dilakukan penanaman bakteri pada media SSA. Pertumbuhan *Salmonella* pada media SSA biasanya ditandai dengan adanya koloni berbentuk bulat, pinggiran rata, tekstur rata, mengkilat, cembung, berukuran 2-3 mm dan bagian tengah berwarna hitam atau black center (Srianta dan Rinihapsari, 2003), karena adanya kombinasi tiosulfat dengan besi sebagai indikator pembentukan sulfida (Bridson, 2006). Pada penelitian ini diperoleh koloni bulat dan berwarna hitam dan dapat dilihat secara makroskopis pada Gambar 2.

Koloni yang berwarna hitam akan diamati morfologinya yang meliputi bentuk, ukuran, pigmentasi, permukaan, tepi, elevasi, dan aspek koloni. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Selanjutnya dilakukan pewarnaan gram untuk memastikan bahwa bakteri tersebut termasuk ke dalam kelompok Gram negatif. Dari hasil pewarnaan Gram menunjukkan koloni berwarna merah muda dan berbentuk batang panjang. Hal ini sesuai dengan pernyataan White et al. (2000) bahwa *Salmonella* sp. merupakan bakteri Gram negatif. Hasil pewarnaan Gram dapat dilihat pada Gambar 3.

Bakteri diamati bentuk, warna, dan hasil pewarnaan Gram. Prinsip pewarnaan Gram berdasarkan kemampuan bakteri mempertahankan



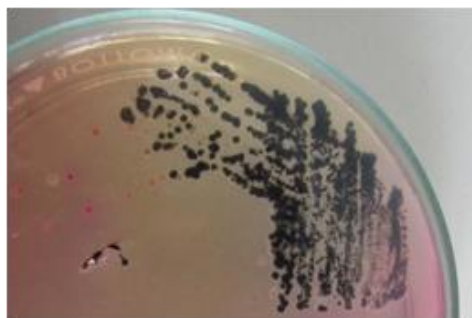
Gambar 1 Hasil pembiakan sampel pada SCB, terjadi perubahan warna menjadi orange

Tabel 1 Hasil pengamatan pertumbuhan bakteri pada SCB

No	Kode Sampel	Warna	Hasil
1	KA1	Orange	Positif
2	KA2	Orange	Positif
3	KA3	Orange	Positif
4	KA4	Orange	Positif
5	KA5	Orange	Positif
6	KA6	Orange	Positif
7	KA7	Orange	Positif
8	KA8	Orange	Positif
9	KA9	Orange	Positif
10	KA10	Orange	Positif
11	KA11	Orange	Positif
12	KA12	Orange	Positif
13	KA13	Orange	Positif
14	KA14	Orange	Positif
15	KA15	Orange	Positif

Tabel 2 Pengamatan morfologi Salmonella spp. yang tumbuh pada media SSA

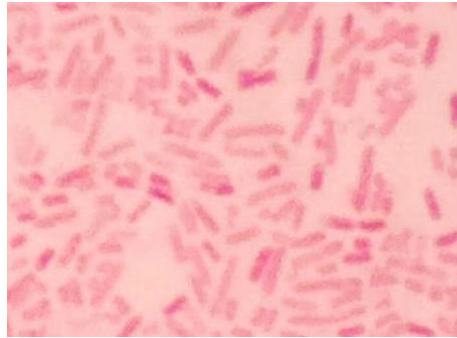
No	Kode Sampel	Bentuk	Ukuran	Pigmentasi	Permukaan	Tepi	Elevasi	Aspek Koloni
1	KA1	Bulat	1 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
2	KA2	Bulat	1 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
3	KA3	Bulat	1,5 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
4	KA4	Bulat	1 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
5	KA5	Bulat	1 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
6	KA6	Bulat	1,5 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
7	KA7	Bulat	2 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
8	KA8	Bulat	1 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
9	KA9	Bulat	1 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
10	KA10	Bulat	1 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
11	KA11	Bulat	1 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
12	KA12	Bulat	2 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
13	KA13	Bulat	1 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
14	KA14	Bulat	1 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
15	KA15	Bulat	2 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap

Gambar 2 Hasil pembiakan *Salmonella* spp. pada SSA

kompleks kristal violet-iodine setelah diberikan alkohol 96% (Kleuring, 2001). *Salmonella* memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis dan membran luar terdiri dari polisakarida sehingga mudah dihancurkan oleh sistem imun dan kehilangan warna violet saat pewarnaan Gram (Brands, 2006). Pengamatan

secara mikroskopis hasil pewarnaan Gram dapat dilihat pada Tabel 3.

Bakteri akan diidentifikasi dengan melakukan uji IMVIC dan biokimia yang dapat dilihat pada Gambar 4 dan Tabel 4.



Gambar 3 Hasil pewarnaan Gram *Salmonella* spp. Diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran (1000x)

Tabel 3 Pengamatan secara makroskopis hasil pewarnaan Gram

No	Kode Sampel	Bentuk	Warna	Kelompok Gram
1	KA1	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
2	KA2	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
3	KA3	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
4	KA4	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
5	KA5	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
6	KA6	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
7	KA7	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
8	KA8	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
9	KA9	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
10	KA10	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
11	KA11	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
12	KA12	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
13	KA13	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
14	KA14	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
15	KA15	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif



Gambar 4 Hasil uji IMVIC dan uji biokimia. 1) Indol, 2) Methyl Red, 3) Voges Proskauer, 4) *Sulfide Indole Motility* (SIM), 5) TSIA, 7) Glukosa, 8) Sukrosa, 9) Laktosa, 10) Manitol, 11) Arabinosa

Tabel 4 Pengamatan hasil uji IMVIC dan biokimia

No	Kode Sampel	Indol	MR	VP	SIM	SCA	TSIA	G	S	L	Mn	A
1	KA1	-	+	-	M/H ₂ S	+	B/H ₂ S/g	+/g	-	(-)	+/g	+/g
2	KA2	-	+	-	M/H ₂ S	+	B/H ₂ S/g	+/g	-	(-)	+/g	+/g
3	KA3	-	+	-	M/H ₂ S	+	B/H ₂ S/g	+/g(+)	-	-	+/g	+/g
4	KA4	-	+	-	M/H ₂ S	(+)	A/H ₂ S/g	+/g	-	-	+/g	+/g
5	KA5	-	+	-	M/H ₂ S	+	A/H ₂ S/g	+/g(+)	-	-	+/g	+/g
6	KA6	-	+	-	M/H ₂ S	+	A/H ₂ S/g	+/g	-	(-)	+/g	+/g
7	KA7	-	+	-	M/H ₂ S	+	B/H ₂ S/g	+/g(+)	-	-	+/g	+/g
8	KA8	-	+	-	M/H ₂ S	+	A/H ₂ S/g	+/g	-	(-)	+/g	+/g
9	KA9	-	+	-	M/H ₂ S	+	A/H ₂ S/g	+/g(+)	-	-	+/g	+/g
10	KA10	-	+	-	M/H ₂ S	(+)	B/H ₂ S/g	+/g	-	-	+/g	+/g
11	KA11	-	+	-	M/H ₂ S	+	A/H ₂ S/g	+/g(+)	-	-	+/g	+/g
12	KA12	-	+	-	M/H ₂ S	+	A/H ₂ S/g	+/g(+)	-	(+)	+/g	+/g
13	KA13	-	+	-	M/H ₂ S	+	A/H ₂ S/g	+/g	-	(-)	+/g	+/g
14	KA14	-	+	-	M/H ₂ S	+	B/H ₂ S/g	+/g	-	(+)	+/g	+/g
15	KA15	-	+	-	M/H ₂ S	+	A/H ₂ S/g	+/g	-	(-)	+/g	+/g

PEMBAHASAN

Uji indol bertujuan untuk melihat kemampuan organisme mendegradasi asam amino triptofan dan menghasilkan indol dengan menggunakan enzim triptopanase yang dapat dideteksi dengan penambahan reagen Kovacs (Hemraj et al., 2013) hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin pink kemerahan (*cherry-red ring*) pada permukaan media (Williams, 2009). Hasil penelitian diperoleh hasil negatif karena dari kelima belas sampel tidak menunjukkan adanya cincin berwarna merah setelah penambahan reagen Kovacs. Hal ini sesuai dengan pernyataan Boland (2013) bahwa spesies *Salmonella* menunjukkan hasil negatif untuk uji indol.

Uji *Methyl Red* (MR) bertujuan untuk melihat kemampuan organisme menghasilkan dan mempertahankan produk asam yang stabil sebagai hasil akhir dari fermentasi glukosa. *Methyl Red* (MR) akan berwarna merah sebagai hasil positif dan kuning sebagai hasil negatif (Tille, 2017). Dari kelima belas sampel diperoleh hasil yang positif yaitu ditandai dengan terjadinya perubahan warna indikator menjadi merah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pervical dan Williams (2014) bahwa *Salmonella* menunjukkan hasil positif untuk uji *Methyl Red* (MR).

Uji *Voges Proskauer* (VP) bertujuan untuk melihat kemampuan organisme untuk mengubah produk asam menjadi *acetoin* dan 2,3-butadienol.

menggunakan reagen α -naphthol dan KOH 40%, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah pada media (Tille, 2017). Hasil uji *Voges Proskauer* (VP) kelima belas sampel menunjukkan hasil negatif sesuai dengan pernyataan Pervical dan Williams (2014) bahwa *Salmonellae* menunjukkan hasil negatif untuk uji *Voges Proskauer* (VP).

Uji *Sulfide Indole Motility* (SIM) bertujuan mengetahui pergerakan bakteri (Hadioetomo, 1985). Media ini mengandung *ferrous ammonium sulfate* and *sodium thiosulfate* yang merupakan indikator pembentukan *hydrogen sulfide* (H₂S). Hasil positif adanya H₂S ditandai dengan menghitamnya medium yang telah diinokulasikan, sedangkan hasil positif adanya motilitas adalah melebarnya zona difusi pertumbuhan dari garis inokulasi (Hardy, 1996). Dari hasil uji SIM didapati semua sampel positif menghasilkan H₂S dan bersifat motil. Hal ini sesuai dengan pernyataan McHan (2014) bahwa *Salmonella* merupakan bakteri yang motil dan dapat menghasilkan gas H₂S.

Uji *Simmons Citrate Agar* digunakan untuk membedakan antara famili *Enterobacteriaceae* dan kelompok *Aerogenes* berdasarkan pemanfaatan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon (Himedia, 2019) Hasil positif uji *Simmons Citrate* ditunjukkan dengan perubahan media menjadi warna biru (Haque dan Sao, 2015) karena adanya indikator *bromthymol blue* (Apelabi et al., 2015). Hasil uji *Simmons Citrate*

Agar untuk kelima belas sampel menunjukkan hasil positif dimana warna media berubah dari hijau menjadi biru. Hal ini sesuai dengan pernyataan Himedia (2019) bahwa *Salmonella* akan menunjukkan reaksi positif pada uji *Simmons Citrate Agar*.

Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri memfermentasi glukosa dan/atau laktosa dan kemampuan untuk menghasilkan gas H₂S. TSIA mengandung tiga biokimia yaitu glukosa, sukrosa dan laktosa. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan media menjadi kuning karena adanya produksi asam. *Salmonella* pada TSIA akan membuat bagian *slant* berubah menjadi merah, dan *bottom* menjadi kuning. Apabila dihasilkan H₂S maka akan bereaksi dengan *ferrous sulfate* (III) dan terbentuk presipitasi hitam dari *ferric sulfide* FeS (II) di bagian *bottom* (Midorikawa, 2014). Hasil uji TSIA menunjukkan bahwa semua sampel menghasilkan H₂S dan menghasilkan *ferric sulfide*. Sampel yang memiliki *slant* bewarna kuning (KA4, KA5, KA6, KA8, KA9, KA11, KA12, KA13, dan KA15) akan membuat media menjadi asam sebagai hasil fermentasi laktosa oleh beberapa spesies *Salmonella*.

Uji biokimia yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari glukosa, laktosa, sukrosa, laktosa, manitol, dan arabinosa yang bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri memfermentasi gula tersebut. *Salmonella* dapat memfermentasi glukosa, manitol dan sorbitol serta menghasilkan gas (Boland, 2013; Percival dan Williams, 2013).

Genus *Salmonella* meliputi dua spesies yaitu *S. enterica* dan *S. bongori*. Subdivisi *S. enterica* terdiri dari 6 subspecies yaitu: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, dan *indica* (Gay et al., 2014). *Salmonella bongori* terbatas pada hewan berdarah dingin, sementara *Salmonella enterica* dapat menginfeksi berbagai jenis hewan berdarah panas (Pasmans et al., 2002; Mansfield dan Fox, 2019).

Beberapa jenis *Salmonella* yang dapat diisolasi dari reptil yaitu: *Salmonella bongori* (Dieckmann et al., 2008), *Salmonella arizonae* dan *Salmonella diarizonae* yang merupakan patogen utama penyebab *reptile associated salmonellosis* (RAS) (Pederson et al., 2009), *Salmonella indica* (Brenner et al., 2000; Grimont dan Weill, 2007; DBITE, 2015), *Salmonella houtenae*, dan *Salmonella salamae* (DBITE, 2015).

Fermentasi laktosa merupakan salah satu prinsip dasar dalam membedakan jenis *Salmonella* (Bonke et al., 2012; Alexan, 2017), sebab hanya beberapa spesies saja yang mampu memfermentasi gula ini (Latif et al., 2014; Alexan, 2017). Jenis *Salmonella*

yang mampu memfermentasi laktosa, yaitu: *Salmonella arizonae* dan *Salmonella diarizonae*, sementara *Salmonella indica* menunjukkan hasil *dubius* untuk fermentasi laktosa (Grimont dan Weill, 2007; DBITE, 2015). Perbedaan kemampuan fermentasi laktosa ini terjadi akibat beberapa strain memfermentasi laktosa dalam kurun waktu 48 jam (hingga 15%). Kehadiran H₂S juga merupakan salah satu kunci diagnostik dalam tes *screening Salmonella* (Winn et al., 2006). Hasil penelitian diperoleh sampel yang mampu memfermentasi laktosa dan menghasilkan H₂S (KA1, KA2, KA6, KA8, KA12, KA13, KA14, dan KA15) yang mengarah kepada *Salmonella arizonae*, *Salmonella diarizonae*, dan *Salmonella indica*. Subspesies *arizonae* dan *diarizonae* menunjukkan hasil indol negatif, MR positif, motil, sitrat positif, dan mampu memfermentasi glukosa, manitol, arabinosa, laktosa, dan tidak memfermentasi sukrosa (DBITE, 2015). Hal ini menyulitkan untuk membedakan kedua *Salmonella* ini, sehingga membutuhkan uji lanjutan seperti uji sensitivitas antibiotik menggunakan bioMérieux VITEK[®] 2 system untuk mengkonfirmasi jenis subspecies (Bella et al., 2011).

Jenis *Salmonella* yang tidak dapat memfermentasi laktosa antara lain: *Salmonella bongori*, *Salmonella houtenae*, dan *Salmonella salamae* (Grimont dan Weill, 2007; DBITE, 2015) Sampel negatif fermentasi laktosa (KA3, KA4, KA5, KA7, KA9, KA10, dan KA11) dapat mengarah pada subspecies tersebut. *Salmonella houtenae* menunjukkan hasil *dubius* fermentasi arabinosa dan *Salmonella salamae* menunjukkan hasil positif uji indol (DBITE, 2015), sehingga kedua subspecies ini tidak termasuk dalam hasil penelitian dimana *Salmonella* mampu memfermentasi arabinosa (90-100%) dan menunjukkan hasil negatif uji indol.

Infeksi *Salmonella bongori* dapat menyebabkan penyakit sistemik pada manusia (Chan et al., 2003) dan enteritis akut pada anak-anak (Giammanco et al., 2002) tetapi kasus ini jarang ditemukan (Fokes et al., 2011).

Infeksi *Salmonella arizonae* dapat terjadi pada host *immunocompromised* dan akibat kontak dengan reptil (Bella et al., 2011) seperti iguana, kura-kura, dan ular (Pedersen et al., 2009; Gunal dan Erdem, 2014), biasanya berpredileksi di usus reptil (Mahajan et al., 2003).

Salmonella diarizonae dapat diisolasi reptil terutama ular (Schroter et al., 2004). Menurut Horvath et al. (2016) *Salmonella* ini dapat menimbulkan rasa sakit pada sinus frontalis, menginfeksi testis dan epididimis pada kambing Ferreras et al., 2007), dan berkolonisasi pada mukosa hidung domba (Lacasta et al., 2012).

Kasus *Reptile Associated Salmonellosis* (RAS) pada manusia terjadi karena 50-90% reptil membawa *Salmonella* spp. Gejala yang ditimbulkan berupa gangguan gastrointestinal 69-78%, penyakit invasif 15%, dan meningitis 5-14% (Briard dan Retornaz, 2015). Persentase *Salmonella* yang tinggi pada reptil berisiko untuk terjadinya transmisi dan infeksi ke manusia dan hewan lainnya (Geue dan Loschner, 2002).

Kura-kura sehat membawa *Salmonella* spp. sebagai flora normal dalam ususnya dan dikeluarkan bersama feses (Pasmans et al., 2002; Bosch et al., 2016; Yenni et al., 2017), sehingga memelihara kura-kura berpotensi menularkan *Salmonella* kepada manusia dan hewan lain seperti anjing dan kucing (Su dan Chiu, 2007). Kontak dengan hewan merupakan rute transmisi bagi kebanyakan patogen enterik. Usaha pencegahan transmisi patogen dari hewan ke manusia memerlukan kesadaran akan kebersihan dan higienitas (Hale et al., 2012).

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa pada kloaka kura-kura ambon (*Cuora amboinensis*) dapat ditemukan beberapa jenis *Salmonella* seperti *Salmonella bongori*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella diarizonae*, dan *Salmonella indica*.

“Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini”.

DAFTAR PUSTAKA

- Ackman DM, Drabkin P, Birkhead G, Cieslak P. 1995. Reptile-associated salmonellosis in New York state. *Pediatr Infect. Dis. J.*, 14(11): 955-956.
- Adak GK, Long SM, Brien SJO. 2002. Trends in indigenous foodborne disease and deaths, England and Wales: 1992 to 2000. *Gut*, 51: 832-838.
- Alexan AF. 2017. Lactose fermenting *Salmonella typhimurium*, *Salmonella Stratford* and *Salmonella blegdam*. *Egypt. J. Agric. Res.*, 95(3): 1285-1297.
- Angulo FJ, Swerdlow DL. 1995. Bacterial enteric infections in persons infected with human immunodeficiency virus. *CID*, 21 Suppl 1:84.
- Aoust JYD, Daley E, Crozier M, Sewell, AM. 1990. Pet turtle : a continuing international threat to public health. *Am. J. Epidemiol.*, 132(2): 233-234.
- Apelabi PC, Wuri DA, Sanam MUE. 2015. Perbandingan nilai total plate count (TPC) dan cecaran *Salmonella* sp pada ikan tongkol (*Eutynnus* sp.) yang dijual di tempat pelelangan ikan (TPI), pasar tradisional dan pedagang ikan eceran di Kota Kupang. *J. Kaji. Vet.*, 3(2): 121-137.
- Apriani D, Badaruddin E, Latupapua L. 2015. Jenis, perilaku, dan habitat turtepel (*Cuora amboinensis amboinensis*) di sekitar sungai Wairuapa Desa Waimital, Kecamatan Kairatu, Seram bagian barat. *JHT*, 3(2) :179-181.
- Arnafia W, Ningrum SG, Adji RS, Lukman DW, Pasarihu FH, Wibawan IWT. 2016. Isolasi of *Salmonella* from reptiles in pet shop and its susceptibility to antibiotics in Indonesia. *Inter. J. Bioflux Soc.*, 8(4): 177-178.
- Bailey JS, Cox NA, Thomson JE. 1981. Efficiency of selenite cystine and tt enrichment broths for detection of *Salmonella*. *J. App. Bacteriol.*, 51: 409-410.
- Bella SD, Capone A, Bordi E, Johnson E, Musso, M, Topino S, Noto P, Petrosillo N. 2011. *Salmonella enterica* ssp. *arizonae* infection on a 43-years old italian man with hypoglobulinemia: a case report and review of the literature. *J. Med. Case Repotr*, 5:1-3.
- Boland S. 2013. *Identification of Salmonella spesies*. UK Standards for Microbiology investigatios, London.
- Bonkey R, Wacheck S, Bumann C, Thum C, Stuber E, Konig M, Stephan R, Ahomma MF. 2012. High prevalence of *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae* in tonsils of ship at slaughter. *Food Research International*, 45:880-883.
- Bosch S, Tauxe RB, Behravesh CB. 2016. Turtle associated salmonellosis, united states, 2006-2014. *Emerg. Infect. Dis.*, 22 (7): 1149-1150.
- Bradley T, Angulo F, Mitchell M. 2001. Public health education on *Salmonella* spp and reptiles. *JAVMA*, 219(6): 754-755.
- Brands, D.A. 2006. *Salmonella*. Chelsea House Publisher, USA.
- Brenner FW, Villar RG, Angulo FJ, Tauxe R, Swaminathan B. 2000. *Salmonella* Nomenclature. *J. Clin. Microbiol.*, 38(7): 2465-2466.
- Briad E, Retornaz K. 2015. *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* meningitis in a neonate exposed to a corn snake. *Pediatric Infect. Dis. J.*, 34(10): 1143-1144.
- Bridson EY. 2006. *The Oxoid Manual*. 9th ed. Oxoid Limited, England.
- CDSUMMARY. 2008. Salmonellosis and campylobacteriosis in infants. *DHS*, 57(22): 1-2.
- Chan K, Baker S, Kim CC, Detweiler CS, Dougan G, Falkow S. 2003. Genomic comparison of *Salmonella bongori* by use of an *S. enterica* serovar *typhimurium* dna microarray. *J. Bacteriol.*, 185(2): 553-554.
- Corrente M, Totaro M, Martella V, Campolo M, Lorusso A, Ricci M, Buonavoglia C. 2006. Reptile

- associated salmonellosis in man, Italy. *Emerg. Infect. Dis.*, 12(2): 358.
- Corry JEL, Curtis GDW, Baird RM. 2003. *Handbook of Culture Media for Food Microbiology, Second Edition, Volume 37*. Elsevier Science, UK.
- DBITE. 2015. *Database of Biochemical Tests of Pathogenic Enterobacteriaceae Family*. BISR, Jaipur.
- Dieckmann R, Helmunth R, Erhard M, Malorny, B. 2008. Rapid classification and identification of *Salmonellae* at the species and subspecies levels by whole cell matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74(24):7767-7768.
- Erina, Karunita D, Amalia S, Fakhrurrazi, Ismail, Henrivanda. 2019. Deteksi *Salmonella* sp pada saluran pencernaan kura-kura ambon (*Cuora amboinensis*). *Jimvet*, 3(2): 55-57.
- Ferreras MDC, Munoz M. Perez V, Benavides J, Pariente CG, Fuertes M, Aduriz G, Marin JFG. 2007. Unilateral orchitis and epididymitis caused by *Salmonella enterica* subspecies *diarizonae* infection in ram. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 19:194-197.
- Fokes M, Schroeder GN, Langridge GC, Blondel CJ, Mammina C, Connor TR, Smith HS, Vernikos GS, Robinson KS, Sanders M, Petty NK, Kingsley RA, Baumler AJ, Nuccio SP, Contreras I, Santiviago CA, Maskell D, Barrow P, Humphrey T, Nastasi A, Roberts M, Frankel G, Parkhill J, Dougan G, Thomson NR. 2011. *Salmonella bongori* provides insights into the evolution of the *Salmonellae*. *Plos Pathogen*, 7(8): 1-2.
- Gay N, Simon LH, Francois XW, Benoit DT, Franck B. 2014. *Salmonella* serotypes in reptiles and humans, french guiana. *Vet. Microbiol.*, 170(2): 167-169.
- Giammanco GM, Pignato S, Mammina C, Grimont F, Grimont PAD, Nastasi A, Giammanco G. 2002. Persistent endemicity of *Salmonella bongori* 48:235:in Southern Italy: molecular characterization of human, animal, and environmental isolates. *J. Clin. Microbiol.*, 40(9): 3502-3504.
- Gras LM, Heck M, Pelt WV. 2015. Increase in reptile-associated human salmonellosis and shift toward adulthood in the age groups at risk, the Netherlands, 1985 to 2014. *Euro Surveill*, 21(34): 1-4.
- Grimont PAD, Weil FX. 2007. *Antigenic Formulae of The Salmonella Serovars. 9th Edition*. Institut Pasteur, France.
- Gunal E, Erdem H. 2014. Detection of *Salmonella arizonae* in an enteric fever outbreak by the id 32 gn automated. *Inter. J. Infect. Dis.*, 215 : 176-177.
- Hadioetomo RS. 1985. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium* Gramedia, Jakarta.
- Hale CR, Scallan E, Cronquist AB, Dunn J, Smith K, Robinson T, Lathrop S, Angelo MTD, Clogher P. 2012. Estimates of enteric illness attributable to contact with animals and their environments in united states. *J. Clin. Infect. Dis.*, 54 Suppl 5:472-479.
- Haque SE, Sao S. 2015. Isolation and identification of microorganisms from different soil samples of Bilaspur. *World J. Pharma. Res.*, 4(6): 2043-2046.
- Hardy. 1996. *SIM (Sulfide, Indole, Motility) Medium*. Hardy Diagnostics, US.
- Hemraj V, Diksha S, Avneet G. 2013. A review of commonly used biochemical test for bacteria. *Innovare J. Life Sci.*, 1(1): 1-7.
- Himedia. 2019. *Technical Data. Simmons Citrate Agar*. Himedia laboratories, India.
- Horvath L, Kraft M, Fostiropoulos K, Falkowski A, Tarr PE. 2016. *Salmonella enterica* subspecies *diarizonae* maxillary sinusitis in a snake handler: first report. Open Forum Infectious Disease, Oxford University Press.
- Jong BD, Andersson Y, Ekdahl K. 2005. Effect of regulation and education on reptile associated salmonellosis. *Emerg. Infect. Dis.*, 11(2): 398-402.
- Kauffmann AF, Morrison ZL. 1966. An epidemiologic study of salmonellosis in turtle. *Am. J. Epidemiol.*, 84(2): 364-366.
- Kleuring G. 2001. *Gram Stain Technique*. Protocol of Molecular Cell Physiology, US.
- Kuroki T, Ishihara T, Nakajima N, Furukawa I, Une Y. 2019. Prevalence of *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* in red-eared sliders (*Trachemys scripta elegans*) retailed in pet shops in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 72: 38-42.
- Lacasta D, Ferrer LM, Ramos JJ, Bueso JP, Borobia M, Arcaute MRD, Figueras L, Sainz JMG, Heras MDL. 2012. Chronic proliferative rhinitis associated with *Salmonella enterica* subspecies *diarizonae* serovar 61:k:1, 5, (7) in sheep in Spain. *J. Comp. Path.*, 147: 406-409.
- Lamn SH, Taylor AJ, Gangarosa EJ, Anderson HW, Young W, Clark MH, Bruce AR. 1972. Turtled-associated salmonellosis. *Am. J. Epidemiol.*, 95(6): 511.
- Lukac M, Pedersen K, Radovic E P. 2015. Prevalence of *Salmonella* in captive reptiles from Croatia. *J. Zoo Wildlife Med.*, 46(2): 234-236.
- Mahajan RK, Khan SA, Chandel DS, Kumar N, Hans C, Chaudhry R. 2003. Fatal case of *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* gastroenteritis in an infant with microcephaly. *J. Clin. Microbiol.*, 41(12): 5830-5832.

- Mansfield KG dan Fox JG. 2009. Bacterial disease. *Common Marmoset Captiv Biomed Res*, 10.1016/B978-0-12-811829-0.00016-9.
- Marin C, Capaccioni SI, Bodi SG, Jimenez FM, Vega S. (2013). Free-living turtles are a reservoir for *Salmonella* but not *Campylobacter*. *PLOS*, 8(8): 1-3.
- McHan. 2014. *Sulfid Indole Motility Medium*. Dalynn Biologicals, Catalogue No. TS58.
- Mermin J, Hoar B, Angulo FJ. 1997. Iguanas and *Salmonella marina* infection in children: a reflection of increasing incidence of reptile-associated salmonellosis in the united states. *Pediatrics*, 99(3): 399-340.
- Mermin J, Hutwagner L, Vugia D, Swallow S, Daily P, Bender J, Koehler RM, Angulo, FJ. (2004). Reptiles, amphibians, and human *Salmonella* infection: a population-based, case-control study. *CID*, Suppl 3; S253-61.
- Midorikawa Y, Nakamura S, Phetsouvanh R, Midorikawa K. 2014. Detection of non typhoidal *Salmonella* using a mechanism for controlling hydrogen sulfide production. *Open J. Med. Microbiol.*, 4: 90-91.
- Mitchell MA, Adamson TW, Singleton CB, Roundtree MK, Bauer RW, Acierno MJ. 2007. Evaluation of a combination of sodium hypochlorite and polyhexamethylene biguanide as an egg wash for red eared slider turtles (*Trachemys scripta elegans*) to suppress or eliminate *Salmonella* organisms on egg surfaces and in hatchlings. *AJVR*, 68(2): 158-159.
- Pasmans F, Herdt PD, Haesebrouck F. 2002. Interactions of *Salmonella enterica* serovar *munchen* with macrophages of the turtle *Trachemys scripta scripta*. *Dev. Comp. Immunol.*, 26(2): 295-300.
- Pedersen K, Nielsen AML, Nordentoft S. Hammer AS. 2009. Serovars of *Salmonella* from captive reptiles. *Zoonoses and Public Health*, 56: 239-240.
- Pervical SL, Williams DW. 2004. *Salmonella. Microbiology of Waterborne Disease (Second Edition)*. Academic Press, US.
- Pickering LK, Baker C J, Kimberlin DW, Long SS. 2012. *Red Book. Twenty-Ninth Edition*. American Academy Pediatric, US.
- Sa IVAD, Solari CA. 2001. *Salmonella* in brazilian and imported pet reptiles. *Braz. J. Microbiol.*, 32: 293-297. ISSN 1517-8382
- Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM. (2011). Foodborne illness acquired in the united states- major pathogen. *Emerg. Infect. Dis.*, eid1701.P11101.
- Scharlau. 2009. *Handbook of Microbiological Culture Media, Edition No. 10*. Scharlau Chemie, Spain.
- Schroter M, Roggentin P, Hofmann J, Speicher A, Laufs R, Mack D. 2004. Pet snakes as a reservoir for *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae* (serogroup IIIb): a prospective study. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70(1): 613-614.
- Shane SM, Gilbert R, Harrington KS. 1990. *Salmonella* colonization in comercial pet turtles (*Pseudemys scripta elegans*). *Epidemiol. Infect.*, 105: 307-315.
- Soedarto. 2012. *Penyakit Zoonosis Manusia Ditularkan oleh Hewan*. Sagung Seto, Jakarta.
- Soeharsono. 2002. *Penyakit Menular dari Hewan ke Manusia*. Kanisius, Yogyakarta.
- Srianta, Rinihapsari E. 2003. Deteksi *Salmonella* pada nasi goreng yang disediakan oleh restoran kereta api kelas ekonomi. *J. Teknol dan Industri Pangan*, 17(3): 253-254.
- Su LH dan Chiu CH. 2007. *Salmonella*: clinical importance and evolution of nomenclature. *Chang Gung Med J.*, 30(3): 210-212.
- Tauxe RV, Perez JGR, Wells JG, Blake PA. 1985. Turtle-associated salmonellosis in Puerto Rico. *JAMA*, 254(2): 237-238.
- Ternhag A, Torner A, Ekdahl K, Giesecke J. 2006. *Salmonella* associated death, Sweden, 1997-2003. *Emerg. Infect. Dis.*, 12(2): 336-337.
- Tille PM. 2017. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. Fourteenth Edition*. Elsevier, US.
- USFDA. CFR – Code of Federal Regulations Title 21. *Turtles intrastate and interstate requirements*. 21 C.F.R. Sect. 1240.62 (revised April 1, 2019) [cited 2019 Apr 1].
- White DG, Zhao S, Sudler R, Ayers S, Friedman S, Chen S, McDermott PF, McDermott S, Wagner DD, Meng, J. 2001. *Salmonella* from retail ground meats. *Engl. J. Med.*, 345: 1147-1148.
- Wikstrom VO, Fernstrom LL, Melin L, Boqvist S. 2014. *Salmonella* isolated from individual reptiles and environmental samples from terraria in private households in Sweden. *Acta Vet. Scand.*, 56(7): 1-2.
- Williams LP, Helsdon HL. 1965. Pet turtle as a cause of human salmonellosis. *JAMA*, 192(5): 349-350.
- Williams MPM. 2009. *Indole Test Protocol*. American Society for Microbiology, US.
- Winn W, Allen SD, Allen S, Janda W, Koneman EW, Schreckenberger PC, Procop GW, Woods GL. 2006. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins, 6.
- Woodward D L, Khakhria R, Johnson WM. 1997. Human salmonellosis associated with exotic pets. *J. Clin. Microbiol.*, 35(11): 2786-2790.
- Yennie Y, Rizky A, Tri H K. 2017. Keberadaan dan multiresistensi antibiotik *Salmonella spp.* dari produk perikanan segar di wilayah DKI Jakarta dan Bogor. *JPB Kelautan dan Perikanan*, 12(1): 79-85.