

ISOLASI *Salmonella* sp PADA AIR TEMPAT PEMELIHARAAN KURA-KURA AMBON (*Cuora amboinensis*)

Isolation of Salmonella sp in the Rearing Water of Ambon Turtle (Cuora amboinensis)

Erina¹, Amalia Sutriana², Darmawi³, Winaruddin⁴, Sugito⁵, Feby Fema Amzani Nasution⁶

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

²Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁴Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁵Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: erina@unsyiah.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri *Salmonella* sp pada air tempat pemeliharaan kura-kura ambon (*Cuora amboinensis*). Sampel penelitian ini menggunakan air yang berasal dari sumber air yang akan dimasukan ke tempat pemeliharaan dan air dari tempat pemeliharaan kura-kura ambon (*Cuora amboinensis*) yang diambil dari enam tempat pemeliharaan. Penelitian ini menggunakan metode Carter. Sebanyak 1 ml air dari masing-masing sumber diambil dengan pipet steril dan diinokulasikan pada media SCB. Apabila warna SCB menjadi *orange* setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam maka akan dilanjutkan dengan penanaman pada media SSA. Koloni yang tumbuh pada media SSA diamati morfologi koloninya secara makroskopis. Untuk pengamatan secara mikroskopis maka dilakukan pewarnaan Gram. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dari keenam sampel air tempat pemeliharaan kura-kura ambon (*Cuora amboinensis*) yang diteliti positif terdapat bakteri *Salmonella* sp. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa *Salmonella* sp dapat diisolasi pada air yang diambil dari enam tempat pemeliharaan kura-kura ambon (*Cuora amboinensis*).

Kata kunci : Reptil, kura-kura ambon (*Cuora amboinensis*), *Salmonella* sp

ABSTRACT

This study aimed to isolate *Salmonella* sp bacteria in the rearing water of ambon turtles (*Cuora amboinensis*). For that purpose, the rearing water samples of Ambon turtles were collected from 6 different rearing sites. The water samples from water sources before poured in the rearing site were also collected and considered as control. One ml of water samples from both water sources were taken with a sterile pipette and inoculated in SCB. If the SCB color change to orange after incubated at 37 °C for 24 hours, then the broth was planted on a selective medium SSA and observed colonies morphology macroscopically. The microscopic examination was carried out after Gram staining. Data were analyzed descriptively. The results indicated that all rearing samples were positive for *Salmonella* sp based on the orange color change in SCB, the growth of black colonies in SSA medium and the presence of long stem bacterial colonies on microscopic observations of Gram staining. Based on this study it can be concluded that *Salmonella* sp can be isolated in rearing water of Ambon turtles (*Cuora amboinensis*) which was collected from 6 different rearing site.

Key words: Reptile, ambon turtle, *Salmonella* sp

PENDAHULUAN

Reptil merupakan kelompok hewan *ectothermic* (Putra *et al.*, 2017). Menurut Putranto *et al.* (2016), kura-kura termasuk ke dalam kelompok reptil. Kura-kura terbagi menjadi dua, yaitu kura-kura darat dan kura-kura air (Mumpuni, 2011). Beberapa contoh jenis kura-kura darat adalah indian star (Saraswati, 2009), baning coklat, dan baning sulawesi (Nugroho *et al.*, 2017), sedangkan jenis kura-kura air diantaranya yaitu kura-kura brazil, kura-kura kayu, dan kura-kura ambon (Saraswati, 2009).

Berbagai macam bakteri yang dapat menginfeksi kura-kura yaitu *Vibrio* sp, *Aeromonas* sp, *Pseudomonas* sp, *Flavobacterium* sp, dan *Salmonella* sp (Glazebrook dan Campbell, 1990). *Salmonella* sp termasuk ke dalam bakteri patogenik (Khaq, 2016) dengan gejala seperti demam, sakit perut, diare (Back *et al.*, 2016), dan diare (Mermin *et al.*, 2004) yang dapat ditransmisikan dari air, tanah (Back *et al.*, 2016 dan Liu *et al.*, 2018), dan hewan yang terinfeksi (Marin *et al.*, 2013). Di Kanada terdapat 8, 057 kasus salmonellosis pada

tahun 1993, 7, 324 kasus pada tahun 1994, dan 7, 138 kasus pada tahun 1995 (Woodward *et al.*, 1997).

Semakin meningkatnya popularitas reptil sebagai hewan peliharaan dapat menyebabkan peningkatan jumlah kasus salmonellosis antara manusia dan hewan (Piasecki *et al.*, 2014). Kasus salmonellosis yang terjadi pada manusia sering dikaitkan akibat kontaminasi dari makanan, akan tetapi infeksi salmonellosis dapat terjadi akibat kontak langsung dengan kura-kura yang terinfeksi (Liu *et al.*, 2018). Pada tahun 2006-2014 dilaporkan bahwa terdapat 15 kasus salmonellosis dari kura-kura menyerang manusia di Amerika Serikat (Bosch *et al.*, 2016). Berdasarkan informasi di atas maka perlu dilakukan penelitian isolasi bakteri *Salmonella* sp pada air dari tempat pemeliharaan kura-kura ambon. Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi bakteri *Salmonella* sp pada air tempat pemeliharaan kura-kura ambon (*Cuora amboinensis*). Dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terkait pencemaran *Salmonella* sp pada air tempat pemeliharaan kura-kura ambon (*Cuora amboinensis*). Hal ini sangat bermanfaat dalam pengendalian salmonellosis pada manusia.

MATERI DAN METODE

Prosedur Penelitian

Pengumpulan Data Kuesioner

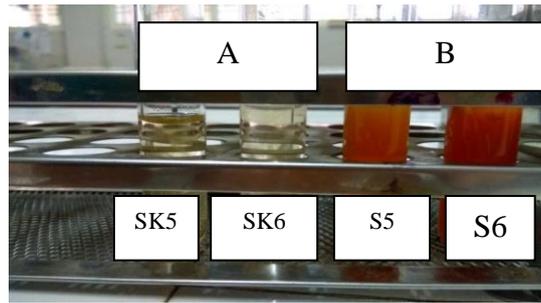
Pengumpulan data dilakukan dengan cara membagikan kuesioner kepada enam pemelihara kura-kura yang diteliti dan pemelihara mengisi kuesioner sesuai dengan petunjuk.

Isolasi *Salmonella* sp

Sampel berupa air yang berasal dari sumber air dimasukkan ke tempat pemeliharaan kura-kura sebagai kontrol dan air tempat pemeliharaan kura-kura diambil dengan menggunakan pipet steril sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke SCB untuk diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Apabila media berubah warna menjadi *orange* maka dilanjutkan penanaman pada media SSA dengan menggunakan teknik goresan T dan diinkubasikan kembali pada suhu 37°C selama 24 Jam. Apabila ada pertumbuhan koloni yang mencirikan *Salmonella* pada media SSA maka diamati morfologinya yang meliputi bentuk, pinggiran koloni, permukaan koloni, pembentukan pigmen, dan elevasi. Untuk memastikan bahwa bakteri tersebut termasuk kedalam kelompok bakteri Gram negatif yang berbentuk batang panjang maka dilakukan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan dengan membuat sediaan pada *object glass* lalu diwarnai dengan zat warna kristal violet selama 3 menit, lugol selama 2 menit, alkohol 96% selama 10 detik, dan warnai dengan safranin selama 1 menit.

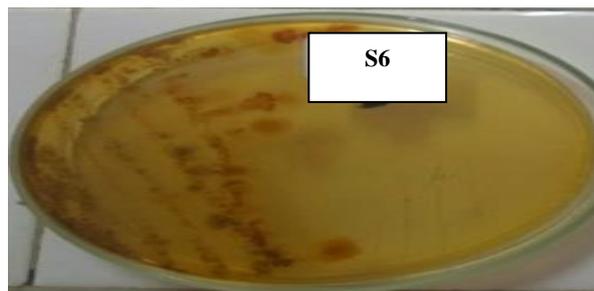
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada semua sampel air sebagai kontrol (air yang akan dimasukkan kura-kura pada 6 tempat pemeliharaan kura-kura ambon), setelah diinokulasi pada media SCB dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam tidak terjadi perubahan warna menjadi *orange*. Berbeda dengan media yang diinokulasikan dengan sampel air dimana kura-kura ambon dipelihara. Media SCB yang diinokulasi dengan ke 6 sampel menunjukkan perubahan warna menjadi *orange* (Gambar 1). Hasil penelitian ini sesuai dengan pernyataan Kusuma (2009), yang menyatakan bahwa hasil positif pada media SCB ditandai dengan perubahan warna media menjadi *orange*. *Selenite cystine broth* merupakan media selektif untuk Enterobacteriaceae (Fitri *et al.*, 2007). Media ini mengandung inhibitor selenite yang tereduksi menjadi selenium merupakan media selektif yang artinya media ini dapat digunakan khusus untuk bakteri Gram negatif yaitu Famili Enterobacteriaceae (Kusuma, 2009).



Gambar 1. Gambaran hasil inokulasi pada *selenite cystine broth* untuk sampel kontrol (A) dan sampel air dimana kura-kura dipelihara (B)

Sampel yang mengalami perubahan warna menjadi *orange* pada media SCB selanjutnya di inokulasi pada media SSA. Media *Salmonella-Shigella agar* (SSA) merupakan media pertumbuhan yang bersifat selektif untuk bakteri Gram negatif dan SSA dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (Maritsa *et al.*, 2017). Hasil inokulasi pada media SSA dari keenam sampel dapat dilihat pada Gambar 2. Pertumbuhan koloni yang terpisah diamati morfologi koloninya secara makroskopis yang meliputi: bentuk koloni, pinggiran koloni, permukaan koloni, pembentukan pigmen, dan elevasi koloninya. Hasil pengamatan morfologi secara makroskopis dapat dilihat pada Tabel 2.



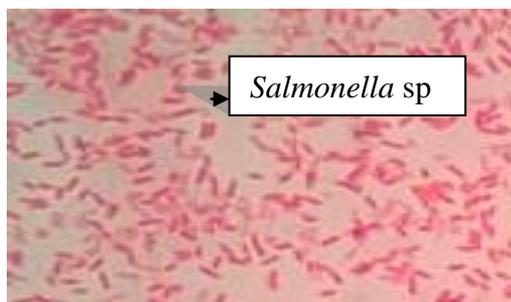
Gambar 2. Gambaran morfologi koloni bakteri *Salmonella* sp sampel S6 pada media *Salmonella Shigella agar* (SSA)

Tabel 2. Hasil pengamatan morfologi secara makroskopis terhadap koloni *Salmonella* sp yang tumbuh pada media *Salmonella-Shigella agar*

No	Morfologi	SAMPEL					
		S1	S2	S3	S4	S5	S6
1	Bentuk	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
2	Pinggiran koloni	Rata	Rata	Rata	Rata	Rata	Rata
3	Permukaan koloni	Halus	Halus	Halus	Halus	Halus	Halus
4	Pembentukan pigmen	Bening (<i>black center</i>)	Hitam	Hitam	Hitam	Bening (<i>black center</i>)	Hitam
5	Elevasi	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung

Data pada Tabel 2 mengindikasikan hasil positif adanya bakteri *Salmonella* sp pada sampel S1 sampai S6, yang ditandai dengan pertumbuhan koloni terpisah pada media SSA yang berbentuk bulat, pinggiran rata, permukaan halus dan pigmentasi bening dengan *black center* dan bening sampai dengan hitam. Hasil penelitian ini sesuai dengan pernyataan beberapa peneliti sebelumnya bahwa bakteri *Salmonella* berbentuk koloni terpisah berbentuk bulat dan cembung (Afriyani *et al.*, 2016 dan Putri, 2018), dan dapat menyebabkan perubahan warna medium menjadi bening dengan *black center* sampai warna hitam (Budiarso dan Maria, 2009; Fitri *et al.*, 2007; Zaraswati, 2006). Perubahan warna ini disebabkan karena bakteri *Salmonella* memproduksi gas H₂S (Srianta dan Elisa, 2003).

Koloni bakteri tersebut diambil dan kemudian dilanjutkan dengan pewarnaan Gram untuk melihat apakah bakteri tersebut termasuk kedalam kelompok bakteri Gram negatif berbentuk batang panjang. Berdasarkan pengamatan secara mikroskopis dari hasil pewarnaan Gram bahwa koloni bakteri dari keenam sampel tersebut termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram negatif yang ditandai dengan warna merah muda dan berbentuk batang panjang (Gambar 3). Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Maritsa *et al.* (2017), Firnanda *et al.* (2013) dan Yuswananda (2015) yang menyatakan bahwa *Salmonella* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang panjang dan berwarna merah muda.



Gambar 3. Gambaran hasil pewarnaan Gram dari koloni *Salmonella* sp dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x

Bakteri Gram negatif memiliki 3 lapisan yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida dan lapisan dalam peptidoglikan (Amri *et al.*, 2017). Dalam proses pewarnaan Gram, pencucian dengan alkohol akan menyebabkan lemak tersebut terekstraksi sehingga bakteri berwarna merah atau merah muda karena penyerapan zat warna safranin (Firnanda *et al.*, 2013).

Untuk menambah informasi dan keakuratan data penelitian, maka dalam penelitian ini juga dilakukan tanya jawab dengan pemeliharaa kura-kura. Hasil tanya jawab tersebut dapat dilihat pada Tabel 3 dibawah ini.

Tabel 3. Hasil kuesioner dari pemelihara kura-kura dari keenam tempat pemeliharaan kura-kura

No	Pertanyaan	Jawaban	Responden
1	Setiap berapa hari sekali air tempat pemeliharaan kura-kura diganti?	A. < Sebulan sekali	6
		B. > Sebulan sekali	0
2	Pada saat mengganti air apakah tempatnya juga dibersihkan?	A. Ya	6
		B. Tidak	0
3	Pakan apa yang diberikan kepada kura-kura yang dipelihara?	A. Sayuran	6
		B. Pelet	0
		C. Ikan Kecil	0
4	Apakah selama memelihara kura-kura, ada penghuni rumah yang diare?	A. Ya	6
		B. Tidak	0

5	Berasal dari mana air yang digunakan untuk tempat pemeliharaan kura-kura?	A. PDAM	6
		B. Sumur	0
6	Tempat pemeliharaan apa yang digunakan untuk memelihara kura-kura anda?	A. Ember	5
		B. Steroform	1
		C. Akuarium	0
7	Jika anda memelihara lebih dari satu kura-kura, apakah kura-kura dipelihara ditempat yang sama?	A. Ya	1
		B. Tidak	5
8	Apakah pemelihara pernah mengetahui informasi bahwa kura-kura dapat menjadi pembawa bakteri Salmonella?	A. Pernah	3
		B. Belum Pernah	3

Berdasarkan hasil responden yang tertera pada Tabel 3 diatas dapat diketahui bahwa keenam pemelihara kura-kura mengganti air tempat pemeliharaan < dari sebulan sekali. Kemungkinan air tempat pemeliharaan kura-kura terkontaminasi bakteri Salmonella dikarenakan kura-kura tersebut telah terinfeksi Salmonella dari sumber lain dan masuk dalam air. Penularan *Salmonella* sp dapat terjadi secara vertikal ataupun horizontal (Brooks *et al.*, 2004).

Penggunaan pakan jenis sayuran kemungkinan memiliki kontribusi yang sangat besar terhadap paparan bakteri Salmonella pada kura-kura. Hal ini sesuai dengan pernyataan Guzman *et al.* (2016) bahwa infeksi dari *Salmonella* sp dapat terjadi melalui kontaminasi dari pakan sayuran. Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Govea *et al.* (2012) juga telah dapat mengisolasi bakteri *Salmonella* sp dari sayuran mentah. Lebih lanjut Aldapa *et al.* (2012) juga melaporkan bahwa penularan salmonellosis dapat terjadi melalui rantai makanan. Kontaminasi bakteri *Salmonella* sp yang berasal dari sayuran dapat terjadi melalui tahapan pengolahan seperti pada saat pemanenan, pencucian, dan perendaman.

Kura-kura yang terinfeksi *Salmonella* sp dari sayuran ini selanjutnya dapat menjadi pembawa bakteri *Salmonella* sp dan mengkontaminasi air. Hal ini sesuai dengan pernyataan Meervenne *et al.* (2009) dan Mermin *et al.* (2004) yang menyebutkan bahwa kura-kura dapat menjadi pembawa bakteri Salmonella yang ditularkan dari pakan atau air yang telah terkontaminasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa air yang akan dimasukkan ke tempat pemeliharaan kura-kura tidak tercemar *Salmonella* sp. Pencemaran air oleh *Salmonella* sp terjadi setelah kura-kura dimasukkan dan dipelihara pada air tersebut.

KESIMPULAN

Salmonella sp dapat di isolasi pada air tempat pemeliharaan kura-kura ambon (*Cuora amboinensis*). Indikasi adanya cemaran *Salmonella* telah dapat dibuktikan pada penelitian ini, oleh sebab itu perlu dilakukan tindakan preventif agar *Salmonella* tidak menginfeksi manusia.

DARTAR PUSTAKA

- Aldapa, C.A.G., Vitela, M.R.T., Lopez, A.V., and Rosas, J.C. (2012). The role of foods in *Salmonella* infections. *J. C.C.R.*, 1(1):1-3.
- Back, D.S., Shin, G.W., Wendt, Mitchell., and Heo, G.J. (2016). Prevalence of *Salmonella* spp in pet turtles and their environment. *Lab. Anim. Res.*, 32(3):166-167.

- Bosch, S., Tauxe, R.V., and Behravesh, C.B. (2016). Turtle-Associated Salmonellosis United States, 2006-2014. *EID Journal*, 22(7):1.
- Brooks, G.F., Butel, J.S., dan Morse S.A. (2004). *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika, Jakarta.
- Budiarso, T.Y. dan Belo, M.J.X. (2009). Deteksi cemaran *Salmonella* sp pada daging ayam yang dijual di pasar tradisional di wilayah kota Yogyakarta. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta*. Yogyakarta, 16 Mei 2009. Hal: 248-249.
- Fitri, A., Setyaningsih, R., dan Susilowati, A. (2007). Pengaruh penambahan daun salam (*Eugenia polyantha*) terhadap kualitas mikrobiologis, kualitas organoleptis, dan daya simpan telur asin pada suhu kamar. *Biofarmasi.*, 5(2):51.
- Glazebrook, J.S. and Campbell, R.S.F. (1990). A survey of the disease of marine turtles in Northern Australia. I. farmed turtles. *Dis. Aquat. Org.*, 9:1-7.
- Govea, M.G., Soto, L.S., Heredia, N., Garcia, S., Moreno, G., Tovar, O. and Isunza, G. (2012). Analysis of microbial contamination levels of fruits and vegetables at retail in monterrey, Mexico. *JFAE*, 10(1):152-153.
- Guzman, V.S., Quinones, C.R.V., Bonifacio, I.N., Ramfrez, E.I.Q. and Salinas, C.V. (2016). Prevalence of *Salmonella* in chicken, beef and pork meat in Mexico City. *J. Microbiol.*, 4(10): 1-4.
- Khaq, K.N. (2016). Deteksi cemaran bakteri *Koliform* dan *Salmonella* sp pada tempe yang dikemas daun pisang di Daerah Salatiga. *JIP*, 28(1):1-3.
- Kusuma, F.A.S. (2009). Uji Biokimia Bakteri. *Tesis*. Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran, Bandung.
- Liu, H., Whitehouse, C.A. and Li, B. (2018). Presence and persistence of *Salmonella* in water: The impact on microbial quality of water and food safety. *Frontier in Public Health*, 6:159.
- Marin, C., Capaccioni, S.I., Bodi, S.G., Jimenez, F.M. and Vega, Santiago. (2013). Free-living turtles are a reservoir for *Salmonella* but not for. *Campylobacter*. *Plos One*, 8(8):1-4.
- Maritsa, H., Aini, F., Nurhakim, D.S., Sihombing, G.M. dan Saputra, A. (2017). Isolasi dan identifikasi cemaran bakteri *Salmonella* sp pada daging ayam dan ikan mentah. *Bio-site*, 3(2):62.
- Mermin, J., Hutwagner, L., Vugia, D., Shallow, S., Daily, P., Bender, J., Koehler, J., Marcus, R. and Angulo, F.J. (2004). Reptiles, Amphibians, and Human *Salmonella* infection: A population-based, case-control study. *CID*, 38:253.
- Meervenne, E.V., Bottledoorn, N., Lokietek, S., Vatlet, M., Cupa, Alexandre., Maranjo, M., Dierick, and Bertrand, S. (2009). Turtle-associated *Salmonella* septicemia and meningitis in a 2-month-old baby. *JMM*, 58:1.
- Mumpuni. (2011). Kerabat labi-labi (suku Trionychidae) di Indonesia. *Jurnal Fauna Indonesia*, 10(2):1.
- Nugroho, H.A., Purwaningsih, E. dan Phadmacanty, N.L.P.R. (2017). Nematoda parasit gastrointestinal pada kura-kura darat Indonesia (*Manourya emys* Schlegel & Muller, 1840 dan *Indotestudo forstenii* Schleger & Muller, 1845). *Pros. Sem. Nas. Masy. Biodiv. Indon.*, 3(1):1.
- Piasecki, T., Chrzastek, K. and Wieliczko, A. (2014). *Salmonella* serovar spectrum associated with reptiles in Poland. *Acta Vet. Brno.*, 83(4):1
- Putra, A.R., Sudhartono, A. dan Ramlah, S. (2017). Eksplorasi jenis reptil di suaka margasatwa Tanjung Santigi Kabupaten Parigi Moutong. *Warta Rimba*, 5(1):1.
- Putranto, D.I., Yuda.P. dan Zahida, F. (2016). Keanekaragaman reptil impor di Yogyakarta Diversity of imported reptiles in Yogyakarta. *Jurnal Biota*, 1(3):1-2.

- Saraswati, D. (2009). *242 Tips Merawat Binatang Kesayangan*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Srianta. dan Rinihapsari, E. (2003). Deteksi *Salmonella* sp pada nasi goreng yang disediakan oleh restoran kereta api kelas ekonomi. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 14(3): 253-257.
- Woodward, D.L., Khakhria, R. and Johnson, W.M. (1997). Human salmonellosis associated with exotic pets. *JCM.*, 35(11):2786.
- Yuswananda, N.P. (2015). Identifikasi Bakteri *Salmonella* sp pada Makanan Jajanan di Masjid Fathullah Ciputat tahun 2015. *Laporan Penelitian*. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Zaraswati, D. (2006). *Mikrobiologi Farmasi*. Universitas Hasanuddin, Makassar.