IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM NEGATIF AIR LIUR ANJING (*Canis lupus familiaris*) DAN KUCING (*Felis catus domesticus*) MENGGUNAKAN GEN 16S rRNA

SKRIPSI

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

Disusun Oleh :

AMALIA ARSYA ALDANIA

NIM : H71216049

PROGRAM STUDI BIOLOGI

JURUSAN SAINS

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL

SURABAYA

2021

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Amalia Arsya Aldania

NIM : H71216049

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2016

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul : "IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM NEGATIF AIR LIUR ANJING (*Canis lupus familiaris*) DAN KUCING (*Felis catus domesticus*) MENGGUNAKAN GEN 16S rRNA". Apabila suatu saat nanti saya terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 3 Januari 2021

Yang menyatakan,

Amalia Arsya Aldania

NIM. H71216049

LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi oleh

NAMA : AMALIA ARSYA ALDANIA

NIM : H71216049

JUDUL : IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM NEGATIF AIR LIUR ANJING (*Canis lupus familiaris*) DAN KUCING (*Felis catus domesticus*) MENGGUNAKAN GEN 16S rRNA

Telah diperiksa dan disetujui untuk diujikan.

Surabaya, 3 Januari 2021

Dosen Pembimbing 1,	Dosen Pembimbing 2,
(Nirmala Fitria Firdhausi, M.Si.)	(Ita Ainun Jariyah, M.Pd)
NIP. 198506252011012010	NIP. 198612052019032012

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Amalia Arsya Aldania ini telah dipertahankan
di depan tim penguji skripsi
di Surabaya, 5 Januari 2021

Mengesahkan,

Dewan Penguji

Penguji I

(Nirmala Fitria Firdhausi, M.Si.)
NIP. 198506252011012010

Penguji II

(Ita Aimun Jariyah, M.Pd)
NIP. 198612052019032012

Penguji III

(Saiku Rokhim, M.KKK.)
NIP. 198612212014031001

Penguji IV

(Sri Hidayati L., SKM., M.Kes.)
NIP. 198201252014032001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Ampel Surabaya

(Dr. Hj. Evi Fatimatur Rusydiyah, M.Ag.)
NIP. 197231227200501 2003

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA
PERPUSTAKAAN
Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : AMALIA ARSYA ALDANIA
NIM : H71216049
Fakultas/Jurusan : SAINS DAN TEKNOLOGI / BIOLOGI
E-mail address : alsyadan97@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :
■ Skripsi ☐ Tesis ☐ Desertasi ☐ Lain-lain (……)
yang berjudul :

IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM NEGATIF AIR LIUR ANJING (*Canis lupus familiaris*) DAN KUCING (*Felis catus domesticus*) MENGGUNAKAN GEN 16S rRNA

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Ekslusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara ***fulltext*** untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 27 Januarri 2021

Penulis

(Amalia Arsya Aldania)

ABSTRAK

IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM NEGATIF AIR LIUR ANJING (*Canis lupus familiaris*) DAN KUCING (*Felis catus domesticus*) MENGGUNAKAN GEN 16S rRNA

Dewasa ini, hewan peliharaan seperti anjing dan kucing memiliki kontak yang erat dengan manusia. Namun kedua hewan tersebut dapat menjadi salah satu vektor penyebaran zoonosis. Salah satu agen zoonosis adalah bakteri, terutama golongan gram negatif. Bakteri gram negatif mempunyai kemampuan untuk menghasilkan endotoksin. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui jumlah dan macam spesies bakteri yang berhasil diidentifikasi dari anjing dan kucing peliharaan yang divaksin maupun tidak. Metode yang digunakan yaitu identifikasi berdasarkan penanda gen 16S rRNA. Sampel saliva berasal dari masing-masing satu anjing dan kucing peliharaan tanpa vaksinasi dan dengan vaksinasi. Pengambilan sampel dengan cara mengapitkan kapas kasa pada vestibular cavity, kemudian diencerkan berseri hingga 10^{-3}. Bakteri ditumbuhkan pada media *MacConkey Agar* (MCA) dan *Nutrent Broth* (NB). Selanjutnya dilanjutkan ke serangkaian tahap molekuler dimulai dari ekstraksi DNA, amplifikasi PCR, elektroforesis, dan sekuensing. Analisis hasil untuk identifikasi spesies menggunakan program BLAST NCBI. Hasil spesies bakteri yang diperoleh dari kucing tidak divaksin adalah *Klebsiella pneumoniae* dan *Enterobacter hormaechei*, sedangkan anjing tanpa vaksinasi yakni *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Proteus* sp., dan *Providencia rettgeri*. Pada anjing peliharaan divaksin terdapat *Stenotrophomonas maltophilia* dan kucing divaksinasi yaitu *Serratia marcescens*.

Kata kunci : kucing peliharaan, anjing peliharaan, bakteri gram negatif, 16S rRNA, MacConkey Agar.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF GRAM NEGATIVE BACTERIA IN DOG'S (*Canis lupus familiaris*) AND CAT'S (*Felis catus domesticus*) SALIVA BY USING 16S rRNA GENE

Nowadays, pets such as dogs and cats have close contact with humans. However, both of them can be zoonotic vectors. One of the zoonotic agents is bacteria, especially the gram negative group. Gram negative bacteria have the ability to produce endotoxins. The purpose of this study was to determine the number and types of species identified from unvaccinated and vaccinated domestic dog and cat. The method used is based on 16S rRNA gene. Saliva samples were obtained from every one domestic dog and cat without vaccination and with vaccination treatment. Sample was taken by placing gauze on the vestibular cavity, then diluting it in series to 10^{-3}. Bacteria were grown on MacConkey Agar (MCA) and Nutrient Broth (NB) media. Next, it's continued to the molecular step, started from DNA extraction, PCR amplification, electrophoresis, and sequencing. Analysis was used the BLAST program by NCBI. Result of identified bacteria specieses that succesfully found in unvaccinated domestic cat were Klebsiella pneumoniae and Enterobacter hormaechei, while in unvaccinated domestic dog were Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli, Serratia marcescens, Proteus sp., and Providencia rettgeri. In vaccinated dog Stenotrophomonas maltophilia was found and vaccinated cat was Serratia marcescens bacteria.

Keywords: domestic cat, domestic dog, gram-negative bacteria, 16S rRNA, MacConkey Agar.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN i
LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING ii
PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI iii
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI iv
ABSTRAK v
DAFTAR ISI vii
DAFTAR TABEL ix
DAFTAR GAMBAR x
BAB I PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 6
1.3 Tujuan Penelitian 7
1.4 Manfaat Penelitian 7
1.5 Batasan Penelitian 8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA **9**
2.1 Anjing 9
2.2 Kucing 16
2.3 Bakteri 21
2.4 Gen 16S rRNA 27
2.5 Teknologi Molekuler 31
2.5.1 Isolasi 32
2.5.2 Amplifikasi PCR 35
2.5.3 Elektroforesis 40
2.5.4 *Sequencing* 41
BAB III METODOLOGI PENELITIAN **45**
3.1 Rancangan Penelitian 45
3.2 Waktu dan Tempat 45
3.3 Alat dan Bahan 47
3.4 Prosedur Penelitian 48

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

3.5.1 Koleksi Sampel 48
3.5.2 Kultur Bakteri 48
3.5.3 Ekstraksi DNA 50
3.5.4 Amplifikasi PCR 52
3.5.5 Elektroforesis 52
3.5.6 *Sequencing* 54
3.5 Analisis 54
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 55
4.1 Koleksi Sampel 55
4.2 Kultur Bakteri Media MCA 57
4.3 Kultur Bakteri Media NB 63
4.4 Ekstraksi DNA 64
4.5 Hasil Amplifikasi PCR dan Elektroforesis 68
4.6 *Sequencing* 70
4.7 Analisis dan Identifikasi 71
BAB V PENUTUP 91
5.1 Simpulan 91
5.2 Saran 91
DAFTAR PUSTAKA 93
LAMPIRAN

.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Perbedaan Gram Positif dan Negatif 22
Tabel 3.1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian 46
Tabel 3.2 Susunan Basa Primer *Forward* dan *Reverse* 48
Tabel 3.3 Komposisi *cocktail* PCR 51
Tabel 3.4 Proses Reaksi PCR sampel 1, 2, 5, 7, 8 52
Tabel 3.5 Proses Reaksi PCR sampel 3, 4, 6 52
Tabel 4.1 Informasi Hewan Peliharaan 55
Tabel 4.2 Hasil Pengamatan Makroskopis Koloni 59
Tabel 4.3 Kemurnian dan Konsentrasi DNA Isolat 67
Tabel 4.4 Hasil Identifikasi Bakteri Gram Negatif 72

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Anjing (*Canis lupus familiaris*) 9
Gambar 2.2 Kucing (*Felis catus domesticus*) 16
Gambar 2.3 Macam-macam karakteristik makroskopik koloni 24
Gambar 2.4 Macam-macam morfologi bakteri 25
Gambar 2.5 Region 16S rRNA 31
Gambar 2.6 Ilustrasi tahapan PCR 37
Gambar 2.7 Sekuensing metode Maxam-Gilbert 43
Gambar 2.8 Mekanisme dan hasil sekuensing metode Sanger 44
Gambar 3.1 Peta lokasi pengambilan sampel 47
Gambar 4.1 Koloni terbentuk pada media MCA 58
Gambar 4.2 Kultur bakteri pada media NB 64
Gambar 4.3 Visualisasi hasil amplifikasi PCR 69
Gambar 4.4 Hasil elektroforesis sebelum proses *sequencing* 70
Gambar 4.5 *Klebsiella pneumoniae* 73
Gambar 4.6 *Enterobacter hormaechei* 76
Gambar 4.7 *Escherichia coli* 78
Gambar 4.8 *Serratia marcescens* 82
Gambar 4.9 *Proteus* sp. 84
Gambar 4.10 *Providencia rettgeri* 86
Gambar 4.11 *Stenotrophomonas maltophilia* 88

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Anjing dan kucing telah dikenal sebagai hewan hasil domestikasi yang hidup berdampingan dengan manusia. Kedua hewan tersebut merupakan hewan liar yang telah melewati proses domestikasi selama ribuan tahun, sehingga sifat liarnya perlahan-lahan hilang. Anjing memiliki nenek moyang serigala abu-abu berhasil didomestikasi menjadi hewan peliharaan yang digunakan untuk membantu kegiatan berburu, sedangkan kucing berasal dari kucing liar Afrika yang berhasil didomestikasi dengan dipelihara untuk mengusir hama tikus pertanian. Melalui proses domestikasi, beberapa orang menjadikan salah satu atau bahkan kedua hewan tersebut sebagai peliharaan (Suwed dan Napitupulu, 2011; Budiana, 2008a). Meski demikian, tidak semua hewan peliharaan yang telah jinak tidak berbahaya bagi pemiliknya. Hewan peliharaan juga dapat menjadi reservoir zoonosis (WHO, 2004).

Zoonosis pada hewan peliharaan dapat menjadi ancaman bagi kesehatan manusia, baik pemilik maupun orang lain. Zoonosis diartikan sebagai salah satu penyakit infeksi yang disebabkan mikroorganisme patogen dan melalui penularan hewan vertebrata pada manusia atau sebaliknya (Khairiyah, 2016). Agen zoonosis biasanya berupa mikroba yang memiliki kemampuan mutasi cepat dan menembus barrier spesifik. Menurut Taylor *et al.* (2001), infeksi penyakit zoonosis mencapai persentase sekitar 60% dari seluruh infeksi yang menyerang manusia.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Pada salah satu kasus zoonosis, seorang wanita di Ohio harus kehilangan kakinya karena infeksi yang ditularkan melalui air liur anjing peliharaannya. Setelah diobservasi, bakteri yang mampu menyebabkan infeksi adalah *Capnocytophaga canimorsus* (Rettner, 2019). Selain itu, pada kasus yang sama, kejadian tersebut telah dialami seorang pria pada tahun 2018. Dalam laporan Nedelman (2018), pria tersebut mengalami sepsis yang berujung pada gangren, sehingga kedua lengan dan kakinya harus diamputasi. Dokter menyatakan bahwa hal tersebut disebabkan infeksi *Capnocytophaga canimorsus* melalui jilatan anjing.

Pada hasil identifikasi adanya *C. canimorsus* dalam mulut anjing, terutama dalam kandungan air liur yang cukup berbahaya, manusia perlu menghindari atau berhati-hati untuk bersentuhan langsung dengan anjing. Dalam Islam, kehati-hatian bersinggungan dengan anjing secara tidak langsung telah dijelaskan dalam hadits berikut :

طُهُورُ إِنَاءِ أَحَدِكُمْ إِذَا وَلَغَ فِيهِ الْكَلْبُ أَنْ يَغْسِلَهُ سَبْعَ مَرَّاتٍ أُولاَهُنَّ بِالتُّرَابِ

Artinya: "*Sucinya bejana di antara kalian yaitu apabila anjing menjilatnya adalah dengan dicuci tujuh kali dan awalnya dengan tanah.*" (H.R. Muslim no. 279)

Hadits di atas memiliki makna tentang kehati-hatian kontak anjing dibatasi dengan hukum 'tidak suci' atau 'najis'. Hukum najisnya anjing ternyata sangat berkaitan dengan laporan terbaru terkait air liur anjing yang mengandung mikroba patogen bagi manusia. Selain itu, kewajiban mensucikan bekas jilatan anjing menggunakan tanah yang bersih telah dibuktikan oleh penelitian Handi (2008) bahwa tanah bersifat antimikroba,

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

sehingga mampu mengurangi kandungan mikroba yang terdapat pada bekas jilatan anjing. Di sisi lain, sifat fisis tanah yang sedikit kasar menyerupai *scrub* terbukti mampu menyapu bersih mikroba yang ada pada bekas jilatan anjing. Selain anjing, kucing juga sering menjadi hewan peliharaan manusia yang banyak diminati. Hal tersebut dikarenakan kucing mudah ditemukan di lingkungan sekitar. Selain itu, sifatnya yang penurut menjadikan kucing mudah dipelihara. Sesuai dengan riwayat hadits berikut bahwa kucing hidup berdampingan dengan manusia :

إِنَّهَا لَيْسَتْ بِنَجَسٍ إِنَّهَا مِنَ الطَّوَّافِينَ عَلَيْكُمْ وَالطَّوَّافَاتِ

Artinya: "Kucing itu tidaklah najis. Sesungguhnya kucing merupakan hewan yang sering kita jumpai dan berada di sekeliling kita." (H.R. Abu Daud no. 75, Tirmidzi no. 92, An Nasai no. 68, dan Ibnu Majah no. 367. Al Hafizh Abu Thohir mengatakan bahwa sanadnya dihukumi shahih).

Kucing yang sering berada di sisi manusia tidak selalu aman karena juga dapat menjadi agen zoonosis. Blanche *et al.* (1998) menyatakan *C. canimorsus* juga ditemukan pada air liur kucing, meski kadarnya lebih sedikit. Bakteri tersebut ditemukan positif pada kucing sebanyak 18%, berbeda dengan anjing yang berjumlah hingga 26% sampel, sedangkan pada sampel manusia dan hamster tidak ditemukan sama sekali. Walaupun temuan *C. canimorsus* mayoritas pada air liur anjing dan kucing, tetap saja ada kemungkinan dapat ditemui pada oral hewan lain, seperti beberapa hewan ternak.

Kelimpahan bakteri selain *Capnocytophaga canimorsus* pada anjing maupun kucing perlu dikaji lebih banyak lagi, terutama bakteri gram negatif.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Hal tersebut dikarenakan bakteri gram negatif mampu menghasilkan senyawa endotoksin. Selain itu, bakteri gram negatif dikenal sebagai bakteri patogen dan sering dikaitkan dengan resistensi antibiotik (Kanipes dan Guerry, 2010). Oleh sebab itu, kesehatan mulut hewan peliharaan perlu diperhatikan. Salah satu cara menjaga kesehatan mulut peliharaan yakni dengan melakukan vaksinasi rutin. Vaksinasi pada hewan peliharaan dinilai dapat mencegah serangan mikroba dan memperkuat daya tahan tubuh (Roth, 2011).

Identifikasi agen penyakit seperti bakteri umumnya dilakukan dengan isolasi dan analisis secara sederhana menggunakan teknik mikroskopik (Pelczar dan Chan, 2008). Akan tetapi, beberapa kendala dalam penentuan spesies bakteri sering terjadi karena kesalahan subjektivitas pengamatan atau kemampuan bakteri yang sejenis dengan fenotip berbeda. Mende *et al*. (2019) telah melakukan identifikasi tiga isolat berbeda dengan karakteristik morfologi berbeda pula. Namun, saat dipastikan kembali menggunakan teknik molekuler, dua diantara tiga isolat bakteri tersebut berasal dari satu spesies yang sama. Oleh sebab itu, teknik berbasis molekuler terus dikembangkan, sebab tingkat efektivitas dan spesifitasnya yang tinggi terhadap penentuan spesies bakteri.

Teknik identifikasi molekuler pada bakteri tidak lepas dari peran gen 16S rRNA. Gen tersebut telah disepakati sebagai gen target bakteri karena memiliki keunggulan paling *conserve*. Identifikasi molekuler mampu menginformasikan sekuens basa penyusun material genetik bakteri tertentu,

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

sehingga dapat diketahui taksa atau spesies bakteri secara pasti dan korelasi genetik antar organisme prokariotik (Rinanda, 2011).

Penelitian Nirwana (2018) menunjukkan beberapa bakteri yang berhasil diidentifikasi menggunakan gen 16S rRNA pada ras anjing herder dewasa adalah *Hidrogenophaga* sp., *Prevotella* sp., *Serratia marcescens*, dan *Bergeyella zoohelcum*. *Hidrogenophaga* sp. diketahui sebagai bakteri yang berada di lingkungan tanah, air, dan lumpur. Sedangkan tiga bakteri selanjutnya merupakan bakteri gram negatif yang mampu menimbulkan infeksi. *Prevotella* sp. ditemukan sebagai flora khas oral dan vagina serta diduga berperan pada kasus abses sekitar mulut, *S. marcescens* bersifat patogen yang mampu menginfeksi saluran kemih, dan *B. zoohelcum* dilaporkan sebagai zoonosis patogen yang ditemukan hidup pada cairan rongga hidung dan mulut anjing.

Pada penelitian lain terkait bakteri yang terkandung dalam air liur kucing dilaporkan Oskouizadeh *et al.* (2010) bahwa *Bartonella henselae* biasa ditemukan sebagai flora oral dan cakar kucing. Hasil identifikasi molekuler mampu mendeteksi *B. henselae* 10,9% (12 dari 110) sampel air liur kucing peliharaan dan 16,7% (5 dari 30) yang ditemukan dalam sampel darah kucing liar. Di sisi lain, penggunaan analisis molekuler menggunakan gen 16S rRNA diterapkan Yamaguchi *et al.* (2019) untuk mengidentifikasi bakteri yang berada pada kantung anus kucing bengal (*Felis catus* × *Prionailurus bengalensis*). Hasil yang diperoleh menggunakan data ASV berhasil mengidentifikasi adanya genus *Tessaracoccus* sebagai flora usus mamalia,

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

genus *Anaerococcus*, *Finogoldia*, dan *Peptoniphilus* yakni bakteri gram positif yang biasa hidup pada usus dan saluran kemih mamalia, genus *Peptostreptococcus* yang dikenal dengan anaerob obligat kucing dan anjing, serta genus *Bacteroides* yang biasa ditemukan sebagai bakteri obligat pada mulut kucing dan pada organ pencernaan anjing.

Beberapa permasalahan yang telah dijelaskan mendorong keinginan peneliti untuk mengambil penelitian tentang 'Identifikasi Bakteri Gram Negatif Air Liur Anjing (*Canis lupus familiaris*) dan Kucing (*Felis catus domesticus*) Menggunakan Gen 16S rRNA'. Topik tersebut diambil dengan alasan urgensi bakteri penyebab zoonosis yang dapat ditularkan melalui air liur hewan peliharaan seperti anjing dan kucing. Selain itu, identifikasi secara molekuler diaplikasikan untuk menentukan spesies bakteri gram negatif apa saja yang terkandung dalam air liur anjing dan kucing yang biasa dipelihara, baik tanpa maupun dengan vaksinasi. Hasil identifikasi bakteri kemudian dapat menjadi referensi dalam membantu proses pencegahan atau pengobatan terhadap bakteri gram negatif selaku agen zoonosis yang ditularkan oleh anjing dan kucing.

1.2 Rumusan Masalah

a. Berapa jenis bakteri yang dapat teridentifikasi pada air liur anjing dan kucing peliharaan tanpa vaksinasi serta dengan vaksinasi berdasarkan penanda gen 16S rRNA?

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

b. Apa saja spesies bakteri yang teridentifikasi pada kandungan air liur anjing dan kucing peliharaan tanpa vaksinasi serta dengan vaksinasi berdasarkan penanda gen 16S rRNA?

1.3 Tujuan Penelitian

a. Untuk mengetahui jumlah jenis bakteri yang dapat teridentifikasi pada air liur anjing dan kucing peliharaan tanpa vaksinasi serta dengan vaksinasi berdasarkan penanda gen 16S rRNA.
b. Untuk menginformasikan spesies bakteri yang teridentifikasi pada kandungan air liur anjing dan kucing peliharaan tanpa vaksinasi serta dengan vaksinasi berdasarkan penanda gen 16S rRNA.

1.4 Manfaat Penelitian

a. Bagi peneliti
   1) Mampu memperkaya pengetahuan terkait bakteri yang terdapat pada air liur hewan, khususnya anjing dan kucing.
   2) Dapat menambah *skill* atau keterampilan tentang identifikasi bakteri menggunakan gen 16S rRNA.
b. Bagi instansi

   Memberikan pertimbangan terkait kebijakan vaksinasi pada hewan peliharaan bagi masyarakat sekitar untuk mengurangi prevalensi penyebaran infeksi bakteri tertentu.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

c. Bagi masyarakat

Memberikan informasi mengenai bakteri yang terkandung dalam air liur anjing dan kucing peliharaan tanpa vaksinasi serta dengan vaksinasi, sehingga masyarakat dapat lebih waspada pada bakteri yang mampu menyebabkan infeksi penyakit.

1.5 Batasan Penelitian

a. Bakteri yang diidentifikasi hanya bakteri gram negatif berasal dari air liur anjing dan kucing ras campuran atau tidak murni.
b. Penelitian yang dilakukan berbasis molekuler dengan menggunakan gen target bakteri 16S rRNA.
c. Primer yang digunakan untuk identifikasi adalah 27F dan 1492R.
d. *Database* yang digunakan untuk BLAST nukleotida adalah NCBI.
e. Lokasi pengambilan sampel di Kota Surabaya.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anjing

Anjing (*Canis lupus familiaris*) termasuk golongan mamalia karnivora yang memiliki keahlian berburu karena kemampuan indera penciuman, penglihatan, dan pendengarannya yang sangat baik. Anjing termasuk dalam keluarga Canidae yang masih berkerabat dekat dengan rubah, colpeo, serigala, coyote, serta jackal. Menurut (Wilson dan Reeder, 2005) anjing memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom : Animalia

Phylum : Chordata

Subphylum : Vertebrata

Class : Mammalia

Ordo : Carnivora

Famili : Canidae

Genus : *Canis*

Spesies : *Canis lupus familiaris*

Gambar 2.1 Anjing (*Canis lupus familiaris*)
Sumber : (Santoso dan Budiana, 2015)

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Anjing menjadi salah satu hewan yang dipilih beberapa orang sebagai peliharaan. Anjing memiliki sifat patuh dan setia, sehingga tidak mengherankan anjing menjadi hewan yang disukai manusia. Bahkan, dalam Alqur'an diceritakan anjing seolah-olah menjadi teman setia yang menjaga *Ashabul Kahfi* pada zaman jauh sebelum diutusnya Nabi Muhammad SAW. Hal ini termaktub dalam Alquran surat Al-Kahfi ayat 18 :

وَ تَحْسَبُهُمْ اَيْقَاظًا وَّهُمْ رُقُوْدٌ ۖ وَنُقَلِّبُهُمْ ذَاتَ الْيَمِيْنِ وَ ذَاتَ الشِّمَالِ ۖ وَكَلْبُهُمْ بَاسِطٌ ذِرَاعَيْهِ بِالْوَصِيْدِ ۗ لَوِ اطَّلَعْتَ عَلَيْهِمْ لَوَلَّيْتَ مِنْهُمْ فِرَارًا وَّلَمُلِئْتَ مِنْهُمْ رُعْبًا ۝

Artinya : "Dan engkau mengira mereka itu tidak tidur, padahal mereka tidur; dan Kami bolak-balikkan mereka ke kanan dan ke kiri, sedang anjing mereka membentangkan kedua lengannya di depan pintu gua. Dan jika kamu menyaksikan mereka, tentu kamu akan berpaling melarikan (diri) dari mereka dan pasti kamu akan dipenuhi rasa takut terhadap mereka."

Dalam Tafsir Ibnu Katsir, makna '*anjing mereka membentangkan kedua lengannya di depan pintu gua*' yaitu anjing peliharaan *Ashabul Kahfi* duduk di bagian pintu gua, jauh dari para pemuda yang tertidur. Tingkah laku anjing tersebut sebagaimana kebiasaan pada zaman dahulu anjing dipelihara dan diikat di depan pintu rumah. Para ulama' menegaskan bahwa anjing tersebut memperoleh hidayah dari Allah dan bertugas layaknya penjaga. Ada pula yang menyatakan anjing tersebut adalah anjing pemburu milik salah satu pemuda *Ashabul Kahfi* (Al-Mubarakfury, 2015).

Sesuai dengan penjelasan tafsir di atas, anjing dapat dijadikan penjaga ataupun pemburu. Sifat naluriah tersebut tidak lepas dari proses evolusi anjing yang berasal dari hewan buas. Anjing dikenal sebagai mamalia karnivora liar yang mengalami proses domestikasi selama ribuan tahun.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Berbagai teori menyatakan anjing memiliki nenek moyang serigala, rubah, ataupun jackal. Namun terdapat dugaan lain bahwa anjing yang dikenal saat ini berasal dari keluarga jauh Canidae atau disebut juga *wild cousin dog*. Meski demikian, kedua anggapan tersebut dapat dibenarkan sebab adanya kesamaan morfologi yang dimiliki, seperti kepala besar dengan rahang kuat, mulut yang berbentuk moncong, dan gigi-giginya yang terdiri dari susunan gigi taring (Budiana, 2008a).

Proses domestikasi anjing dimulai pada 10.000-15.000 tahun yang lalu. Dahulu, anjing hidup berkelompok dengan berburu. Namun seiring berjalannya waktu, jumlah hewan buruan semakin berkurang, sehingga anjing memenuhi kebutuhannya dengan mencari makanan sisa manusia. Hal ini mengakibatkan pola migrasi anjing mengikuti perpindahan manusia secara terus menerus dan meningkatkan interaksi antara manusia dan anjing menjadi lebih baik. Hubungan mutualisme manusia dan anjing pun terjadi melalui aktivitas berburu bersama. Manusia mulai memelihara anjing untuk membantu berburu sebab kemampuannya yang gesit dan indera penciumannya yang tajam, sedangkan anjing memperoleh sebagian hasil buruan untuk dimakan (Budiana, 2008a).

Pada perkembangan zaman dari masa berburu menjadi masa bercocok tanam dan beternak, anjing masih menjadi hewan peliharaan yang terpercaya. Anjing mulai dimanfaatkan sebagai penjaga hewan ternak untuk membantu kerja penggembala. Waktu yang terus berganti menjadikan manusia berinovasi untuk memperoleh jenis anjing yang diinginkan.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Percobaan mengawin-silangkan anjing ditujukan mendapat peranakan khusus untuk berburu atau penjaga (Budiana, 2008a).

Hingga saat ini, anjing-anjing modern telah diperoleh melalui berbagai persilangan antar-ras dengan tujuan tertentu. Pembagian anjing dibagi menjadi anjing mongrel (*nonpedigree*) dan ras (*pedigree*). Anjing mongrel adalah anjing lokal yang tidak diketahui ras murninya dan memiliki ras campuran. Di sisi lain, anjing ras adalah anjing asli yang masih memiliki sifat bawaan rasnya. Anjing ras biasa dijadikan peliharaan yang mampu menjadi penjaga, pemburu, teman di rumah, bahkan penghilang stress. Anjing mampu menjelma sebagai hiburan sang pemilik dengan mengurangi beban konsentrasi yang menimbulkan stres (Sukadiyanto, 2010).

Anjing yang dikenal manusia sekarang ini rata-rata memiliki postur tubuh tegak, proporsional antara panjang dan tingginya, serta memiliki daya tahan tubuh lebih kuat. Akan tetapi, ukuran tubuh anjing menjadi dasar pembeda dalam pengggolongan trah. Trah menurut Sutrisno dan Putranto (2005) adalah hubungan antar-anggota satu keturunan tanpa adanya keterikatan syarat. Sedangkan trah dalam anjing umumnya digunakan sebagai isyarat pengelompokkan ukuran anjing yang dibagi menjadi 3 trah, yaitu trah kecil dengan berat kurang dari 10 kg, trah sedang yang memiliki berat 10-25 kg, dan trah besar dengan bobot tubuh lebih dari 25 kg (Untung, 2007; Budiana, 2008b).

Meskipun menjadi hewan ramah yang sangat dekat dengan manusia, anjing memiliki ancaman terhadap manusia yang hidup di sekitarnya berupa

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

penyakit zoonosis. Zoonosis didefinisikan sebagai penyakit dan infeksi yang dapat ditularkan vertebrata pada manusia ataupun sebaliknya secara alamiah. Zoonosis umumnya disebabkan oleh agen penyakit berupa prion, virus, jamur, protozoa, dan bakteri. Infeksi virus rabies masih menduduki tingkat paling berbahaya zoonosis pada anjing yang dapat ditularkan ke manusia (WHO, 2004).

Pada mulanya, kasus zoonosis anjing ke manusia ditularkan melalui gigitan. Namun seiring dengan meningkatnya kontak manusia dan anjing, seperti ciuman atau jilatan langsung, potensi penularan zoonosis juga meningkat. Hal ini berdasarkan kasus seorang wanita di Ohio, terpaksa menjalani proses amputasi kakinya yang dikarenakan jilatan anjing kecilnya. Mulanya, infeksi yang dialami pada bulan Mei lalu ditandai dengan indikasi penyakit tropis. Akan tetapi setelah dilakukan pemeriksaan lebih lanjut, wanita tersebut mengalami infeksi bakteri *Capnocytophaga canimorsus* (Rettner, 2019). Kejadian zoonosis *C. canimorsus* melalui jilatan anjing sebelumnya juga telah terjadi pada seorang pria pada tahun 2018. Pria tersebut mengalami sepsis yang berujung gangren, sehingga kedua tangan dan kakinya harus diamputasi (Nedelman, 2018). Fischer *et al.* (1995) melaporkan *C. canimorsus* berkembang biak dalam makrofag dan bersifat sitotoksik. Meskipun data yang dihimpun CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) menyatakan kejadian yang disebabkan *C. canimorsus* terbilang langka, infeksi dapat menyerang siapa saja yang memiliki imunitas lemah.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Kasus zoonosis yang disebabkan *C. canimorsus* adalah salah satu dari banyaknya permasalahan zoonosis anjing yang ditularkan ke manusia. Dalam agama Islam, kehati-hatian berkontak langsung dengan anjing tersirat dalam hadits Nabi Muhammad SAW :

عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ ﷺ قَالَ : قَالَ رَسُوْلَ اللهِ ﷺ : طُهُورُ إِنَاءِ أَحَدِكُمْ إِذَا وَلَغَ فِيهِ الْكَلْبُ أَنْ يَغْسِلَهُ سَبْعَ مَرَّاتٍ أُولاَهُنَّ بِالتُّرَابِ

Artinya: "*Dari Abu Hurairah r.a., dia berkata bahwa Rasulullah SAW bersabda :* '*Sucinya bejana di antara kalian yaitu apabila anjing menjilatnya adalah dengan dicuci tujuh kali dan awalnya dengan tanah.*'" (H.R. Muslim no. 279)

Hadits tersebut dihukumi *shahih* oleh Ibnu Hibban dan Al Hakim beserta ulama' lainnya menurut At-Tirmidzi dalam kitab Al Muharrar. Hal yang perlu diperhatikan yakni '*sucinya bejana di antara kalian yaitu apabila anjing menjilatnya adalah dengan dicuci..*' bahwa bejana atau sesuatu bekas jilatan anjing yang belum dicuci (dibersihkan) dihukumi 'tidak suci' atau dapat disebut 'najis'. Hukum najisnya anjing yang telah dijelaskan dalam sabda Nabi Muhammad SAW tersebut rupanya berkorelasi dengan studi penemuan bahaya air liur anjing. Fokus utama bahaya air liur anjing terletak pada kandungan mikroorganisme yang bersifat patogen bagi manusia.

Di samping hukum najisnya air liur anjing, perintah mencuci bekas jilatan dengan menggunakan tanah bersih seirama dengan penelitian Handi (2008) terkait kemampuan tanah steril sebagai antimikroba. Hasil uji daya hambat tanah steril terhadap pertumbuhan bakteri *Micrococcus* sp. dari air liur anjing memiliki zona hambat berdiameter 11,7 mm. Penelitian tersebut juga membuktikan banyaknya pencucian berpengaruh pada jumlah koloni

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

bakteri. Frekuensi pembasuhan air yang semakin banyak mampu menurunkan jumlah koloni bakteri yang menempel pada tangan bekas jilatan anjing. Terlebih lagi saat menggunakan tanah steril, bakteri pada tangan tidak ditemukan sama sekali. Dalam uji ini, observasi pada tangan yang telah dibasuh hingga lima kali atau lebih (disertai dengan pembilasan tanah steril) tidak ditemukan adanya mikroorganisme. Hal tersebut dikarenakan sifat fisik tanah berupa butiran kasar menyerupai *scrub* mampu mengangkat kotoran berupa mikroba dan menjangkau pori-pori kulit.

Anjing merupakan hewan mamalia yang unik. Keunikan ini terletak pada cara anjing melepaskan panas. Anjing akan terengah-engah dan menjulurkan lidahnya untuk meningkatkan kemampuan evaporasi air liur (Siswanto, 2016). Air liur anjing dihasilkan kelenjar saliva mayor dan minor yang berada di mukosa oral. Air liur dibedakan menjadi dua macam, yakni saliva glandular dan *whole* saliva. Saliva glandular adalah air liur murni yang dihasilkan kelenjar saliva, sedangkan *whole* saliva adalah air liur yang telah tercampur dengan cairan lain dari sulkus gingival, mukus hidung, bakteri, sisa makanan, dll. (Kasuma, 2015).

Pelepasan panas melalui sekresi air liur dikarenakan anjing tidak leluasa berkeringat, sebab kelenjar keringatnya hanya terdapat pada sela-sela jari kaki. Selain air liur, cairan pada hidung anjing juga dapat berperan sebagai pengganti keringat. Oleh sebab itu, rongga mulut dan hidung anjing selalu basah (Isnaeni, 2006).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

2.2 Kucing

Kucing (*Felis catus domesticus*) adalah salah satu hewan yang digemari manusia karena kepintaran, kemampuan menghibur, dan tingkah menggemaskannya. Kucing mulanya berasal dari hewan liar yang berhasil dijinakkan, sehingga kerap menjadi hewan peliharaan yang penurut. Menurut Wilson dan Reeder (2005) kucing memiliki taksonomi berikut :

Kingdom : Animalia

Phylum : Chordata

Subphylum : Vertebrata

Class : Mammalia

Ordo : Carnivora

Famili : Felidae

Genus : *Felis*

Spesies : *Felis catus domesticus*

Gambar 2.2 Kucing (*Felis catus domesticus*)
Sumber : (Suwed dan Napitupulu, 2011)

Kelebihan kucing berupa sifatnya yang ramah dan manja menarik minat siapa saja untuk memeliharanya. Sifat kucing yang ingin selalu diperhatikan oleh pemiliknya dapat menjadi pengalih konsentrasi dan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

kepenatan sebagai sumber stres seseorang (Sukadiyanto, 2010). Awalnya, kucing yang dikenal saat ini sangat berbeda dari nenek moyang kucing sebenarnya.

Pada mulanya, nenek moyang kucing bersifat liar dan sangat takut mendekati manusia. Miacis, diduga nenek moyang kucing, beruang, dan anjing 50 juta tahun lalu secara bertahap mengalami evolusi menyerupai kucing. Laju evolusi Miacis dalam sejarah keluarga kucing berkembang menjadi tiga grup besar, yakni *Acinonynx*, *Panthera*, dan *Felis*. *Felis* mencakup seluruh kucing berukuran kecil, seperti kucing liar Afrika (*Felis sylvestris*) yang dipercaya sebagai asal muasal kucing modern saat ini (Suwed dan Napitupulu, 2011).

Menurut penemuan kerangka kucing bersama manusia di Cyprus pada 7.500 SM lalu, kucing diperkirakan telah hidup berdampingan dengan manusia. Setelah diidentifikasi, kerangka tersebut memiliki kemiripan dengan kucing yang ada saat ini. Akan tetapi menurut sejarah yang ada, domestikasi kucing dimulai dari 4.000 SM. Pada masa itu, kucing dijadikan sebagai penjaga lumbung dan toko sumber pangan di Mesir. Selain itu, kucing digunakan untuk mengusir hama tikus di sawah. Di sisi lain, menurut analisis genetik proses domestikasi kucing berlangsung sejak 10.000 tahun lalu (Suwed dan Napitupulu, 2011). Driscoll *et al.* (2009) menjelaskan dalam sebuah penelitian terhadap 1.000 ekor kucing liar dan domestik, *Felis silvestris* rupanya memiliki kesamaan sekuens DNA dengan kucing rumahan.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Kucing dibagi menjadi tiga kelompok, yakni kucing domestik, *stray*, dan *feral* (liar). Kucing domestik diartikan sebagai kucing peliharaan yang biasa hidup dan berdampingan dengan manusia, sedangkan kucing *stray* dan *feral* dapat diartikan sebagai kucing liar namun pada dasarnya berbeda. Kelompok kucing *stray* didefinisikan sebagai kucing yang pernah hidup dengan manusia, akan tetapi akhirnya hidup di alam luar. Apabila kucing *stray* ini kembali dipelihara, maka sifatnya yang pernah bersosialisasi dengan manusia dapat melakukan kontak kembali seperti sedia kala. Berbeda halnya dengan kucing *feral* yang benar-benar kucing liar sejak pertama lahir hingga tumbuh-kembangnya di alam. Kucing *feral* biasanya sangat takut berkontak dengan manusia karena menganggapnya sebagai ancaman (NPCA, 2018).

Saat ini seluruh keturunan kucing di dunia telah terbagi menjadi kucing liar dan kucing jinak. Sama seperti anjing, kucing digolongkan menjadi kucing lokal dan kucing ras. Kucing lokal juga disebut kucing kampung karena keberadaannya yang hidup di sekitar manusia tanpa jejak asal yang jelas dan hasil dari peranakan ras campuran. Di sisi lain, kucing ras biasanya dikhususkan sebagai hewan peliharaan dan mempunyai asal usul yang jelas. Kucing ras dapat dikatakan kucing keturunan murni. Penggolongan kucing ras dikelompokkan berdasarkan jenis rambut yang menutupi tubuhnya, meliputi *longhair cats, shorthair cats, semi-longhair cat, curly, wirehaired, hairless* (Suwed dan Napitupulu, 2011).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Seluruh kucing menjadi hewan yang paling sering hidup berdampingan dengan manusia. Kucing biasa ditemukan baik di lingkungan sekitar maupun sebagai hewan peliharaan. Dalam hadits telah diriwayatkan oleh Imam Empat tentang keberadaan kucing :

عَنْ أَبِي قَتَادَةَ ﷺ أَنَّ رَسُوْلَ اللهِ ﷺ قَالَ فِي الْهِرَّةِ : إِنَّهَا لَيْسَتْ بِنَجَسٍ إِنَّمَا هِيَ مِنْ الطَّوَّافِيْنَ عَلَيْكُمْ

Artinya: "Dari Abu Qatadah R.A. sesungguhnya Rasulullah SAW bersabda perihal kucing : 'sesungguhnya ia (kucing) tidaklah najis, tetapi ia adalah binatang yang hidup berkeliaran di sekitar kalian'." (H.R. Abu Daud, Tirmidzi, Nasa'i, dan Ibnu Majah)

Menurut At-Tirmidzi dan Ibnu Khuzaimah, hadits di atas dihukumi *shahih*. Dalam hadits tersebut menerangkan bahwa kucing tidak dihukumi najis. Selain itu, keberadaan kucing sebagai hewan yang biasa berada di sekitar manusia juga menjadi penjelas kalimat sebelumnya. Noel dan Hu (2018) menyatakan tubuh kucing yang bersih dikarenakan struktur papilla filiform berkeratin pada lidahnya. Struktur tersebut memungkinkan kucing untuk membersihkan permukaan tubuh hingga pori-pori yang tertutup rambut. Selain itu, papilla filiform berkeratin membantu air liur kucing mengalir hingga menjangkau kulit.

Kucing menghabiskan 24% waktunya dengan menjilati permukaan tubuh yang ditujukan untuk membersihkan diri. Cara tersebut juga dilakukan untuk menghilangkan kutu rambut dan merapikan rambut yang kusut. Selain itu, kegiatan menjilati tubuh mampu mengurangi panas berlebih. Kucing memiliki kelenjar keringat di seluruh tubuh dan telapak kaki, namun tidak leluasa berkeringat karena tertutup oleh rambut dan luasan telapak kakinya cenderung kecil. Oleh sebab itu, papila filiform

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

berkeratin berfungsi untuk mengayunkan air liur sebagai pendingin dan pengganti sekresi keringat (Noel dan Hu, 2018).

Pada hadits riwayat lain menerangkan hukum sucinya kucing tidak hanya berlaku untuk tubuh kucing, tetapi juga air liurnya. Hukum tersebut secara tidak langsung disampaikan oleh Aisyah R. A. dalam hadits berikut :

وَقَدْ رَأَيْتُ رَسُولَ اللهِ صَلَّى اللهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ يَتَوَضَّأُ بِفَضْلِهَا

Artinya : "Saya melihat Rasulullah SAW berwudhu' dengan air sisa minum kucing" (H.R. Abu Daud)

Hadits di atas dihukumi *shahih* oleh Syaikh al-Albani. Hadits tersebut menceritakan tentang Rasulullah SAW berwudhu' pada tempat penampungan air bekas minum kucing. Secara tidak langsung, sabda Rasulullah SAW menyiratkan hukum kucing bukan hewan yang najis. Kitab al-Majmu 'ala Syarh al-Muhadzdzab menerangkan hukum air bekas minum kucing dan hewan lain dinilai suci, kecuali anjing dan babi serta keturunannya. Mayoritas madzab menghukumi permasalahan tersebut tidak najis, kecuali madzhab Imam Hanafi (PISS KTB, 2015).

Keberadaan kucing ras atau kucing lokal yang berdampingan hidup dengan manusia nampaknya juga mampu menjadi jalur penyebaran zoonosis. *Bartonella henselae* telah diketahui sebagai flora khas kucing yang mampu mengakibatkan infeksi pada organisme lain. Bakteri patogen tersebut sering dikaitkan dengan kasus *cat stratch disease* (CSD). Pada hasil penelitian, 12 dari 110 sampel air liur kucing peliharaan terdeteksi positif *B. henselae* (Oskouizadeh *et al*., 2010). Selain itu, air liur kucing juga berpotensi mengandung bakteri *Capnocytophaga canimorsus* yang dikenal

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

sebagai bakteri umum pada anjing. Penelitian Westwell *et al.*, (1989) menunjukkan kelimpahan *C. canimorsus* pada oral kucing mencapai 17%, meskipun persentase bakteri tersebut lebih tinggi pada anjing (24%). Transmisi *C. canimorsus* pada kucing dapat disebabkan melalui gigitan (54%), cakaran (9%), atau kontak yang terlalu dekat dengan anjing (27%).

2.3 Bakteri

Bakteri merupakan salah satu mikroorganisme tak kasat mata yang berukuran 0,1μm – 2 μm. Bakteri memiliki struktur sederhana, tanpa organel lengkap dan kompleks. Hal yang membedakan bakteri secara signifikan dengan sel lain adalah tidak adanya membran inti sel, sehingga bakteri dikelompokkan dalam prokaryotik (Pelczar dan Chan, 2008).

Struktur bakteri cenderung sederhana karena terdiri dari dinding dan sitoplasma. Dinding sel bakteri memiliki substansi kimiawi berupa peptidoglikan yang mengandung N-asetilglukosamin (AGA), N-asetilmuramat (AAM), dan peptida. Struktur luar dinding sel bakteri biasanya dilengkapi flagelum untuk motilitas, *phili* sebagai alat pelekat dengan sel lain, atau kapsul yang berperan dalam pertahanan diri. Berdasarkan komposisi dinding sel bakteri dibedakan menjadi gram positif dan negatif (Pelczar dan Chan, 2008). Perbedaan dasar keduanya akan disajikan pada tabel berikut :

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Tabel 2.1 Perbedaan gram positif dan negatif

KARAKTERISTIK	PERBEDAAN RELATIF	
	GRAM POSITIF	GRAM NEGATIF
Ketebalan dinding sel	Tebal (15-80 nm)	Tipis (10-15 nm)
Kandungan lipid	Sedikit lipid (1-4%)	Lebih banyak lipid (11-22%)
Komposisi peptidoglikan	50% dari berat kering	10% dari berat kering
Pewarnaan gram	Biru atau ungu	Merah atau merah muda

Sumber : (Pelczar dan Chan, 2008)

Selain karakteristik khusus yang membedakan bakteri gram positif dan negatif, keduanya dapat dibedakan dari tingkat patogenisitas. Bakteri gram negatif memiliki tingkat patogenisitas lebih tinggi dari bakteri gram positif. Hal ini dikarenakan bakteri gram negatif mempunyai substansi endotoksin pada dinding selnya. Substansi tersebut mempermudah aktivitas bakteri gram negatif untuk berinteraksi dan menginfekasi sel inang. Pada tahap lebih lanjut, bakteri gram negatif mampu menyebabkan sepsis yang berujung pada kematian sel inang (Kanipes dan Guerry, 2010). Selain itu, bakteri gram negatif mempunyai ketahanan terhadap antibakteri atau antibiotik tertentu, sehingga dikenal lebih mudah mengalami resistensi. Mekanisme tersebut disebabkan membran terluar yang berfungsi sebagai barier dengan sifat permeabel. Struktur ini yang menjadi faktor utama dalam kontribusi resistensi antibiotik (Exner *et al.*, 2017).

Pada sitoplasma bakteri mempunyai struktur yang lebih lengkap. Seluruh material sel berada pada lingkup ini. Daerah-daerah sitoplasma terbagi menjadi tiga, yaitu sitoplasma dengan granular, daerah kromatin, dan bagian zat alir. Bagian sitoplasma dengan granular memiliki banyak protein RNA memadat yang disebut ribosom. Ribosom adalah organel yang memainkan peran penting dalam sintesis protein bakteri. Selain

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

daerah sitoplasma bergranular, terdapat daerah kromatin yang terdiri atas tubuh kromatin, nukleoid, atau kromosom. Komposisi berisi materi genetik tersebut menjadi alasan daerah kromatin dapat dikatakan sebagai daerah nukleus. Area tersebut dekat dengan mesosom sebab keterikatan antara keduanya berperan dalam proses reproduksi bakteri (Pelczar dan Chan, 2008).

Bagian yang tidak kalah pentingnya dalam sitoplasma bakteri adalah daerah zat alir. Daerah ini memiliki kandungan nutrien dan partikulat terlarut membentuk badan inklusi. Badan inklusi dapat dijumpai sebagai granula-granula kecil yang mengakumulasi senyawa kimia tertentu, misalnya sulfur terhimpun pada tubuh inklusi *Thiobacillus thioparus* (Pelczar dan Chan, 2008). Badan inklusi bakteri mempunyai mekanisme sebagai pengemas bahan mekanis seperti enzim dan protein fungsional, serta akumulator amiloidosis *in vivo* (García-Fruitós *et al.*, 2005).

Pelczar dan Chan (2008) membagi morfologi bakteri menjadi dua macam, yakni secara struktur kasar dan struktur halus. Talaro (2007) menyatakan struktur kasar bakteri cenderung dapat dilihat tanpa alat bantu tertentu. Struktur kasar ditinjau dari kenampakan koloni, meliputi ukuran, bentuk koloni, pigmentasi, permukaan (elevasi), dan bentuk tepian koloni.

Ukuran koloni dibedakan menjadi *pinpoint*, kecil, sedang, dan besar. Skala pengukuran tersebut berdasarkan diameter tiap koloni. Koloni *pinpoint* seukuran titik, sedangkan koloni ukuran kecil nampak sedikit lebih besar tetapi kurang dari 1 mm. Koloni berukuran sedang memiliki

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

diameter 1-3 mm, sementara koloni besar berukuran lebih dari 3 mm (Sousa *et al.*, 2013). Parameter lain dapat dilihat pada gambar 2.3 berikut :

Gambar 2.3 Macam-macam karakteristik makroskopik koloni, dibedakan dari : bentuk, permukaan, dan tepian.
Sumber : (Dwidjoseputro, 1990)

Fokus pengamatan struktur halus bakteri dapat dilihat dari bentuk dan ukuran sel bakteri, serta struktur istimewa lain, seperti endospora, flagel, phili, ataupun kapsul yang terbentuk. Adapun bentuk-bentuk bakteri dibedakan Pelczar dan Chan (2008) seperti berikut :

a. Kokus (*coccus*)

   Bakteri kokus berbentuk menyerupai bangun elips atau bola. Bakteri ini dikelompokkan kembali berdasarkan pola pembelahan sel yang dibentuk, yakni mikrokokus, diplokokus, tetrakokus, streptokokus, sarkina, dan stafilokokus.

b. Basil (*bacil*)

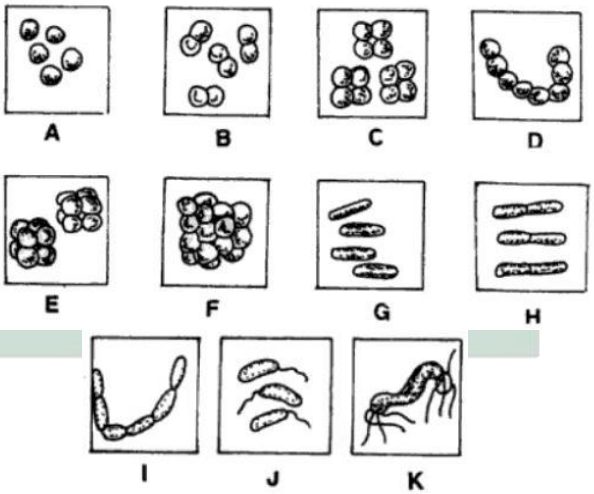
   Bakteri basil memiliki bentuk mirip silinder atau batang. Namun, tidak semua bakteri basil terlihat seperti persegi panjang, sebab adanya perbedaan bentuk ujung bakteri basil serta panjang dan lebar sel.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Beberapa bakteri basil dapat menyerupai bentuk kokus sehingga disebut kokobasilus. Secara umum, Reddy (2001) mengategorikan bakteri basil menjadi monobasilus (mikrobasilus), diplobasilus, dan streptobasil.

c. Spiral

Bakteri spiral mempunyai dinding sel kaku berpilin kuat dan dilengkapi flagelum. Bakteri ini memiliki karakter soliter. Beberapa golongan bakteri spiral bersifat patogen yang dapat mengakibatkan kematian bagi hostnya, seperti *Leptospira* sp. Kelompok bakteri spiral dibedakan berdasarkan bentuk dan ukuran panjangnya, yaitu vibrio dan spirillum (Pelczar dan Chan, 2008).



Gambar 2.4 Macam-macam morfologi bakteri : (A) mikrokokus, (B) diplokokus, (C) tetrakokus, (D) streptokokus, (E) sarkina, (F) stafilokokus, (G) basilus, (H) diplobasilus, (I) streptobasilus, (J) vibrio, dan (K) spiral.
Sumber : (Reddy, 2001)

Pelczar dan Chan (2008) menjelaskan bahwa identifikasi bakteri memerlukan proses pembiakkan dengan cara menumbuhkan suatu isolat. Kemampuan tumbuh bakteri secara optimum didukung oleh kondisi nutrisi yang sesuai kebutuhan tiap isolat. Beberapa nutrisi yang dibutuhkan pada

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

media tumbuh bakteri adalah sumber energi, senyawa karbon, senyawa nitrogen, sulfur dan fosfor, unsur logam, vitamin, dan air.

Media pertumbuhan bakteri biasanya berorientasi pada keperluan identifikasi. Meski demikian, media bakteri telah dikembangkan dengan berbagai tujuan. Media tersebut dibagi menjadi beberapa macam, yakni :

a. Media dasar

Media dasar merupakan tipe media yang umum karena kemampuannya sebagai media tumbuh berbagai bakteri. Media ini juga disebut sebagai media standar. Salah satu contoh media dasar adalah *Nutrient Agar* (NA) yang memiliki komposisi pepton, ekstrak daging atau ragi, air, garam, dan agar sebagai bahan pemadat. NA dinilai telah memenuhi syarat media yang baik untuk kebutuhan tumbuh bakteri (Weeks dan Alcamo, 2008).

b. Media selektif

Media selektif dibuat untuk kebutuhan isolasi bakteri dalam kelompok tertentu. Media ini memiliki bahan kimia khusus supaya mampu menumbuhkan bakteri yang spesifik. Media selektif juga dapat dibuat dari media dasar dengan bahan lain yang sengaja dicampurkan. Contoh media selektif adalah *blood agar* dan MacConkey untuk bakteri gram negatif (Lestari *et al.*, 2018).

c. Media diferensial

Media diferensial mempunyai keunggulan untuk membedakan kelompok bakteri melalui morfologi dan biokimianya. Media ini

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

didesain dengan senyawa kimia yang mampu membedakan warna koloni. Contoh media diferensial adalah *Eosin Methylene Blue* (EMB) untuk membedakan jenis bakteri coliform. Koloni berwarna hijau metalik menunjukkan bakteri *Escherichia coli*, warna merah muda pada koloni *Enterobacter aerogenes*, dan *Salmonella* tidak berwarna pada media EMB (Lestari *et al.*, 2018).

d. Media diperkaya

Enriched medium atau media diperkaya diaplikasikan untuk mendukung pertumbuhan bakteri yang tidak mudah tumbuh. Bakteri *Streptococcus* spp. membutuhkan suplemen tambahan berupa darah supaya tumbuh dengan baik. Telah diketahui dengan baik bahwa *Streptococcus* spp. mampu menyebabkan hemolisis darah (Weeks dan Alcamo, 2008).

2.4 Gen 16S rRNA

Setiap makhluk hidup memiliki substansi genetik yang tersusun atas gen-gen struktural maupun fungsional. Gen-gen tersebut memegang peran penting dalam pewarisan sifat berupa karakteristik genotip maupun fenotip. Selain itu, melalui gen tertentu yang membawa informasi asam amino mampu mengungkap jenis spesies atau kekerabatan antar spesies (Nusantari, 2015).

16S ribosomal RNA (S mengacu pada satuan *Svedberg*) terdapat pada seluruh organisme prokaryotik di bumi. 16S rRNA terletak pada

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

bagian ribosom, lebih tepatnya pada sub unit kecil 30S. 16S rRNA diekspresikan oleh gen 16S rDNA pada daerah kromatin (Liu, 2011).

Pada awal mula penentuan gen target bakteri, berbagai pertimbangan diperlukan. Gen rRNA dipilih karena mempunyai tingkat kelestarian tinggi dan tidak mengalami proses evolusi. Gen pengode rRNA juga menentukan filogenetik dan hubungan antar bakteri. Gen ini terdapat di seluruh spesies bakteri dengan laju mutasi yang sangat lambat dan cukup konstan, sehingga disebut *molecular clock*. Di samping mengidentifikasi genotip bakteri, gen 16S rRNA dapat diaplikasikan untuk konstruksi filogeni (Marchandin dan Jumas-Bilak, 2006). Wilayah 16S rRNA disahkan menjadi gen target bakteri karena memiliki panjang yang cukup, tidak seperti 5S yang terlalu pendek (120bp) dan 23S yang terlalu panjang (2.900bp) sehingga mempersulit proses identifikasi (Rinanda, 2011).

Peranan gen 16S rRNA telah lama membantu proses identifikasi mikroorganisme, khususnya bakteri. Identifikasi molekuler menggunakan 16S rRNA dinilai lebih efektif, sehingga proses analisis bakteri lebih cepat dan tepat. Identifikasi berbasis molekuler dapat meluruskan analisis morfologis yang kurang tepat. Beberapa penelitian memerlukan analisis molekuler dari data fenotip bakteri yang diperoleh, sebab hasil analisis secara konvensional terkadang mengalami kegagalan identifikasi. Kesalahan yang mengakibatkan kegagalan klasifikasi mencakup kegagalan pemilihan media, penentuan morfologi, pewarnaan gram, aktivitas oksidase, serta pada uji biokimia. Hal tersebut seiring dengan kemampuan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

bakteri yang cepat mengalami mutasi karena proses adaptasi dan resistensi (Drancourt *et al.*, 2000).

16S rRNA mempunyai panjang sekitar 1.500bp yang terdiri dari sembilan region mengandung daerah hipervariabel. Tiap region terletak pada basa nukleotida dengan interval 69-99, 137-242, 433-497, 576-682, 822-879, 986-1043, 1117-1173, 1243-1294, dan 1435-1465 untuk V1 hingga V9. Beberapa region dikecualikan dalam wilayah target analisis bakteri, seperti region V9 dinilai tidak tersedia dalam banyak hasil analisis. Selain itu, region V8 juga jarang digunakan karena memuat daerah ambigu dengan adanya residu (Chakravorty *et al.*, 2007). Region lain yang berperan dalam target analisis bakteri adalah :

a. Region V1

Region V1 tidak banyak mengidentifikasi spesies bakteri. Akan tetapi, region ini dinilai sebagai daerah yang mampu mengidentifikasi *Streptococcus* sp. patogenik secara umum. Selain *Streptococcus* sp., region V1 jarang digunakan karena mengandung banyak nukleotida residu (Chakravorty *et al.*, 2007). Shahi *et al*. (2017) menambahkan bahwa region V1 meningkatkan bias pada hasil *Clostridium*, namun menurunkan tingkat bias pada kelompok *Bacteroidetes*.

b. Region V2

Region V2 memiliki panjang rata-rata 100bp. Identifikasi molekuler menggunakan region V2 mampu membedakan 110 spesies bakteri dalam tingkatan genus, kecuali untuk bakteri *Coliform*. Region

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

V2 memiliki *single nucleotide polymorphism* (SNP) sehingga mampu digunakan untuk analisis bakteri *Staphilococcus*, *Clostridium*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Fusobacterium*, dan *Mycobacterium* (Chakravorty *et al.*, 2007).

c. Region V3

Region V3 mempunyai similaritas dengan V2 terkait kemampuan membedakan bakteri pada tingkat genus, meskipun ukurannya lebih pendek (65 bp). Region V3 mengandung SNP lebih tinggi, sehingga mampu membedakan sebagian besar spesies bakteri hingga tingkat genus. Hasil analisis molekuler bakteri menggunakan region V3 mencakup genus *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Propionibacterium*, dan *Rhodococcus*. Selain itu, region V3 telah berkemampuan membedakan beberapa spesies bakteri *Coliform* (Chakravorty *et al.*, 2007).

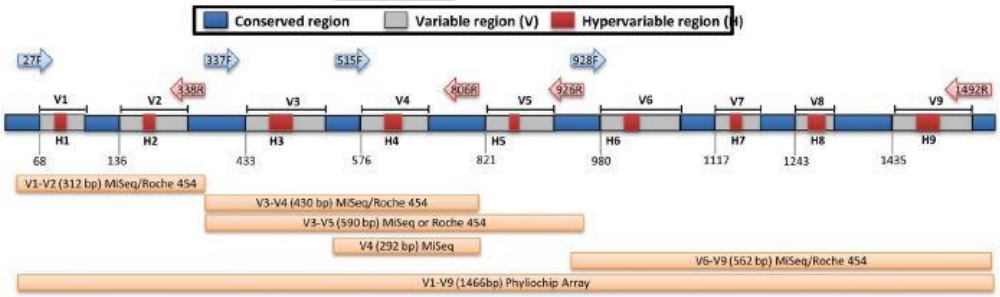
d. Region V6

Region V6 memiliki panjang sebesar 58bp. Region V6 dianggap menjadi daerah target terbaik untuk identifikasi bakteri karena tingkat SNP yang cukup besar. Region ini dapat membedakan berbagai spesies bakteri, kecuali golongan *Coliform*. Kemampuan terbaik region V6 mampu menguji bakteri *Bacillus anthracis* dan *Bacillus cereus* dengan kemiripan dan keterkaitan erat dalam pada salinan gen yang dimiliki (Chakravorty *et al.*, 2007).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

e. Region V4, V5, V7, dan V8

Keempat region ini memiliki daerah hipervariabel yang kurang cocok untuk identifikasi spesies. Region V5 dinilai tidak mampu mengidentifikasi spesies karena daerah *conserve* yang cukup besar. Di sisi lain, region V7 berkemampuan deteksi bakteri, namun hasil pengujian yang diperoleh kurang sensitif (Chakravorty *et al.*, 2007).



Gambar 2.5 Region 16S rRNA
Sumber : (Shahi *et al.*, 2017)

Peningkatan laju genotip bakteri sejalan dengan perkembangan desain primer yang lebih baik. Beberapa primer dibuat secara spesifik mengikuti region yang tepat dalam identifikasi bakteri tertentu (Marchandin dan Jumas-Bilak, 2006). Namun demi meningkatkan efektifitas identifikasi molekuler, primer universal mulai dikembangkan agar dapat mengamplifikasi gen dengan berbagai region. Primer universal mampu mengkonversi produk PCR lebih dari satu region, misal V1-2 atau V3-5 (Shahi *et al*., 2017).

2.5 Teknologi Molekuler

Teknologi molekuler merupakan ilmu terapan dari beberapa disiplin ilmu lain yang berbasis sains dan teknologi. Teknologi molekuler memiliki

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

korelasi dengan biologi molekuler, dimana ilmu tersebut dapat diartikan sebagai ilmu tentang fungsi organisme tertentu yang ditinjau secara struktural terkait regulasi tingkat molekul penyusunnya (Yuwono, 2009). Orientasi biologi molekuler mencakup kajian asam nukleat, sistem regulasi, dan protein. Analisis materi genetik berbasis molekuler dimulai dari keberhasilan penemuan kromosom melalui proses pelisisan sel. Dasar penemuan tersebut memicu studi lebih lanjut terkait DNA dan ekspresinya, sehingga analisis genomik berbasis molekuler terus dikembangkan (Nurhayati dan Darmawati, 2017).

Analisis biologi molekuler mempunyai banyak teknik dengan tujuan yang berbeda. Salah satu teknik paling umum yang sering digunakan adalah *Polymerase Chain Reaction* atau PCR. Teknik PCR merupakan teknik dasar analisis DNA yang menerapkan cara hibridisasi. Ketepatan deteksi DNA dapat mencapai 100%, namun harus disertai analisis target gen yang benar (Nurhayati dan Darmawati, 2017).

2.5.1. Isolasi

Isolasi DNA atau biasa disebut ekstraksi DNA adalah tahapan awal dalam memisahkan DNA dengan komponen sel yang lain. Tujuan dari proses ini yakni memperoleh DNA murni tanpa adanya kontaminasi partikel asing. DNA (*deoxyribonucleic acid*) merupakan material genetik beruntai ganda yang bertugas dalam pewarisan sifat seseorang. DNA tersusun berpilin ke kanan dengan komposisi basa nukleotida berulang membentuk polipeptida. Adapun komponen penyusun DNA meliputi :

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

gula pentosa deoksiribosa, basa nitrogen, serta gugus fosfat (Zein dan Prawiradilaga, 2013).

Isolasi DNA mempunyai beberapa tahap, yakni pemisahan partikel debris, presipitasi, dan pengambilan DNA. DNA sebenarnya dapat diperoleh dengan berbagai macam teknik, baik teknik fisik ataupun kimiawi. Ekstraksi teknik fisik contohnya dengan penumbukkan sampel, sedangkan ekstraksi kimia umumnya menggunakan kit (Zein dan Prawiradilaga, 2013).

Secara umum, ekstraksi DNA memiliki beberapa teknik, yaitu :

a. Ekstraksi organik

Ekstraksi organik menggunakan bahan pelarut organik, seperti kloroform atau fenol. Kedua pelarut tersebut memiliki kemampuan mengikat protein. Setelah melalui proses sentrifugasi protein yang memiliki kerapatan tinggi akan mengendap dan DNA dalam supernatan fase air dapat terpisah. Pada dasarnya *sodium dodecylsulfate* (SDS) dan Proteinase K juga membantu proses ekstraksi organik. Kedua campuran tersebut berfungsi sebagai langkah awal merusak dinding sel atau protein yang menyelubungi untai DNA. Ketika berhasil melewati tahap sentrifugasi, kloroform atau fenol ditambahkan pada *tube*. Hal ini berkaitan dengan sifat DNA yang dapat larut dengan air mengandung sedikit senyawa organik (Zein dan Prawiradilaga, 2013).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

b. Ekstraksi *chelex*

Ekstraksi chelex merupakan metode ekstraksi berbasis ikatan ion. Larutan chelex mengandung pasangan ion iminodiasetat dari *styrene divinylbenzene copolymers*. Ion-ion tersebut mampu berikatan dengan Mg^{2+} sebagai kofaktor DNA polimerase, sehingga mengakibatkan ketidakmampuan enzim untuk melindungi molekul DNA (Sutrisno *et al*., 2013). Metode *chelex* memiliki keunggulan berupa langkah-langkah yang lebih sederhana dibandingkan metode ekstraksi organik (Zein dan Prawiradilaga, 2013).

c. Ekstraksi FTA *paper*

Pada tahun 1980 akhir, Lee Burgoyne mulai mengembangkan teknik ekstraksi lain dengan kertas FTA. Kertas FTA umumnya digunakan sebagai metode ekstraksi alternatif untuk tumbuhan sebab mampu menyerap selulosa. Kelebihan kertas FTA yakni DNA tidak mudah rusak karena kontaminasi mikroorganisme. Akan tetapi, hasil ekstraksi kertas FTA memiliki konsentrasi lebih rendah jika dibandingkan dengan ekstraksi CTAB (Siegel *et al.*, 2017).

d. Ekstraksi CTAB

Ekstraksi menggunakan *cetyl trimethyl ammmonium bromide* (CTAB) biasa diaplikasikan pada sampel dengan kandungan polifenol atau polisakarida. Ekstraksi CTAB telah diuji Siegel *et al*. (2017) memiliki hasil absorbansi mendekati angka 1.8, dimana nilai tersebut mengindikasikan tingginya kemurnian DNA yang diperoleh.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Seiring berjalannya waktu, metode ekstraksi DNA mengalami perkembangan untuk meningkatkan efisiensi bagi para peneliti. Berbagai perusahaan di bidang kimia maupun farmasi berusaha mempelopori kit yang dapat digunakan baik secara spesifik pada organisme tertentu ataupun digunakan secara universal. Macam-macam kit yang dapat ditemukan secara komersial adalah QIAmp DNA Mini kit (Qiagen), GenElute mammalian genomic DNA kit (Sigma-Aldrich), Wizard ® Genomic DNA Purification Kit (Promega), dll. (Liu, 2011). Wizard ® Genomic DNA Purification Kit merupakan salah satu dari banyaknya kit komersial yang efektif digunakan. Hal ini dikarenakan kit tersebut bersifat universal pada berbagai tipe sampel dan hanya menyediakan empat larutan utama untuk meringkas tahapan ekstraksi yang cenderung membutuhkan banyak bahan (Promega Coorporation, 2019).

2.5.2. Amplifikasi PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Teknologi molekuler berbasis PCR pertama kali dikenalkan Kary B. Mullis pada tahun 1985. Teknik PCR mengadaptasi proses replikasi DNA pada sel secara *in vitro* menggunakan mesin *thermocycler*. Melalui pembatasan inisiasi berupa primer yang bersifat komplementer, untai DNA dapat disalin mirip dengan pasangan dari cetakannya (Zein dan Prawiradilaga, 2013).

Proses PCR secara garis besar menggambarkan kondisi penyalinan fragmen DNA yang memiliki gen target tertentu. Untai ganda DNA akan berpisah menjadi rantai tunggal yang berperan sebagai *template*. Cetakan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

yang telah terbentuk akan menyediakan tempat penempelan primer sebagai fungsi awal pembentukan salinan. Setelah itu, *Taq* polimerase yang berperan seperti DNA polimerase mengkatalisasi ikatan fosfodiester –OH karbon 3’ dengan gugus 5’ dNTP. Hal tersebut mengakibatkan proses polimerasi salinan DNA dari arah 5’ ke 3’ yang menghasilkan salinan DNA (Zein dan Prawiradilaga, 2013).

Adapun proses PCR memiliki seragkaian tahap yang meliputi denaturasi, *annealing*, dan elongasi. Zein dan Prawiradilaga (2013) menjelaskan tiap-tiap proses memerlukan optimasi suhu dan waktu yang tepat dalam keberlangsungan proses PCR seperti berikut :

a. Denaturasi

Tahap denaturasi merupakan tahap awal pemisahan rantai ganda DNA, sehingga diperlukan suhu yang cukup tinggi dan waktu yang singkat untuk merusak ikatan hidrogen antar untai DNA. Optimasi suhu denaturasi berkisar antara 95°C hingga 97°C dengan waktu 30-60 detik. Apabila denaturasi mematok suhu lebih rendah atau waktu lebih sedikit maka akan berakibat pada renaturasi, sedangkan apabila terlalu berlebihan maka akan berakibat pada disfungsi *Taq* polimerase. Oleh sebab itu, tahap ini memerlukan predenaturasi agar rantai DNA berhasil terdenaturasi.

b. *Annealing*

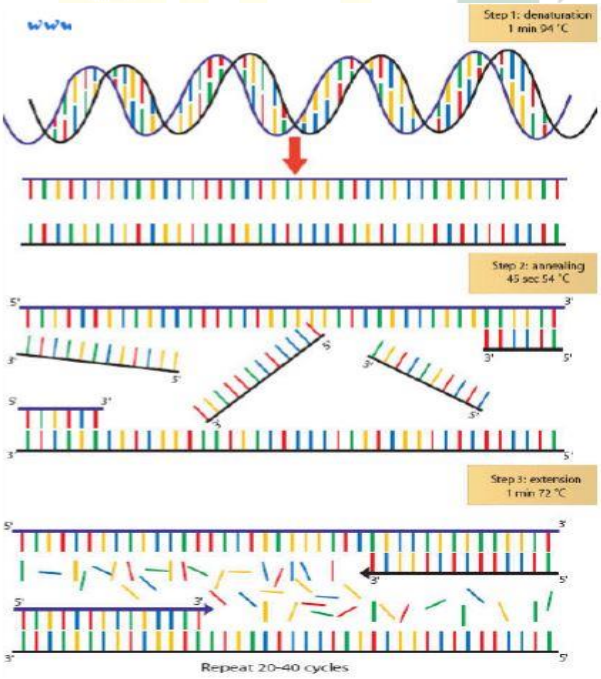
Pada tahap ini berlangsung reaksi penempelan primer yang membutuhkan suhu 36°C–72°C. Optimasi ketepatan suhu pada tahap ini

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

mengikuti Tm primer yang sesuai protokol. *Taq* polimerase juga berpartisipasi dalam tahap ini, sehingga pengaturan suhu tidak boleh lebih tinggi dari batas maksimal aktivasinya.

c. Elongasi

Tahap akhir berupa elongasi membutuhkan suhu 72°C, karena disebut sebagai kondisi optimum pemanjangan rantai DNA salinan. Penyusunan nukleotida sebanyak 35-100 basa kurang lebih membutuhkan waktu paruh selama satu detik. Kecepatan tersebut mengacu pada kondisi pH, larutan *buffer*, kandungan garam, serta DNA target yang digunakan. Pada beberapa penelitian, tahap *post* elongasi dilakukan dalam kurun waktu 5–10 menit untuk memastikan seluruh hasil PCR memiliki struktur *double helix*.



Gambar 2.6 Ilustrasi tahapan PCR
Sumber : (Nurhayati dan Darmawati, 2017)

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Dalam melaksanakan proses PCR, beberapa komponen sangat dibutuhkan untuk mendukung keberhasilan amplifikasi DNA. Bahan-bahan seperti sepasang primer, DNA *template*, dNTP, *Taq* polimerase, $MgCl_2$, dan larutan buffer merupakan komponen inti yang wajib ada. Komponen-komponen tersebut akan dijelaskan peranannya sebagai berikut :

a. Primer

Primer merupakan oligonukleotida terdiri atas susunan 18–30 basa yang berperan sebagai inisiasi penyalinan rantai DNA secara *in vitro*. Primer terdiri atas *forward* dan *reverse*. Primer *forward* adalah oligonukleotida inisiasi daerah awal DNA dengan urutan 5' – 3', sedangkan primer reverse menginisiasi dari daerah akhir. Amplifikasi PCR memerlukan peranan primer karena dapat memberi ruang dNTP. Primer mengandung gugus hidroksil bebas yang terletak pada karbon 3'. Pada desain primer perlu diperhatikan syarat-syarat tertentu agar tidak terjadi kesalahan dalam penempelan primer (*mispriming*). Keberhasilan penempelan primer pada DNA *template* akan menghasilkan salinan rantai yang komplementer (Handoyo dan Rudiretna, 2000).

b. DNA *template*

DNA *template* adalah bahan utama dalam proses PCR, sebab DNA *template* berfungsi sebagai cetakan untuk menciptakan salinan. DNA *template* untai tunggal berasal dari rantai DNA ganda yang

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

memiliki gen target untuk amplifikasi PCR. Cara memperoleh DNA *template* yakni dengan pengaturan suhu *thermocycler* yang tepat sehingga dapat merusak ikatan hidrogen dan mengakibatkan untai ganda terpisah (Zein dan Prawiradilaga, 2013).

c. dNTP

dNTP merupakan bahan PCR yang berfungsi sebagai penyedia basa nukleotida. dNTP terdiri atas dATP (deoksiadenosin trifosfat), dTTP (deoksitimidin trifosfat), dCTP (deoksisitidin trifosfat), dan dGTP (deoksiguanosin trifosfat). dNTP sebagai *building block* bertugas memperpanjang nukleotida yang diinisiasi oleh primer dengan menempel pada ujung 3' gugus –OH. Pemberian dNTP juga diatur oleh protokol tertentu (Handoyo dan Rudiretna, 2000).

d. *Taq* polimerase

Taq polimerase memiliki prinsip seperti enzim DNA polimerase yang bertugas sebagai katalis pemanjangan untai DNA produk. Enzim ini berasal dari isolasi bakteri *Thermus aquaticus* yang bersifat termofilik (Zein dan Prawiradilaga, 2013).

e. $MgCl_2$

$MgCl_2$ atau magnesium klorida yakni senyawa yang dimanfaatkan sebagai penyedia ion Mg^{2+}. Ion tersebut dibutuhkan dalam membantu proses *annealing* dengan melakukan pengikatan primer dan DNA *template*. Ion Mg^{2+} juga mampu memecah dNTP menjadi dNMP agar

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

membentuk ikatan fosfodiester dengan ujung 3' OH (Zein dan Prawiradilaga, 2013).

f. Larutan *buffer*

Larutan *buffer* merupakan latutan standar yang digunakan untuk mempertahankan fungsi enzim *Taq* polimerase. Larutan *buffer* memiliki komposisi KCl, Tris-Cl, dan beberapa kit mencampurkan $MgCl_2$ di dalamnya (Zein dan Prawiradilaga, 2013).

2.5.3. Elektroforesis

Elektroforesis adalah suatu teknik analisis hasil PCR dengan cara kimiawi yang berpedoman pada migrasi molekul bermuatan dalam aliran listrik. Teknik ini membutuhkan media cair semi padat sebagai perantara dan aliran listrik yang membantu perpindahan molekul bermuatan secara berkala. Melalui perhitungan laju pergerakan suatu molekul, hasil amplifikasi PCR dapat dibaca dalam ukuran *basepair* (bp). Adapun faktor yang mempengaruhi perpindahan molekul yaitu sifat fisik dan kimiawi molekul, konsentrasi media, serta besar medan listrik (Titrawani, 1996).

Elektroforesis memiliki dua macam tipe, yaitu horizontal dan vertikal. Elektroforesis horizontal merupakan teknik yang digunakan dalam pengukuran panjang basa DNA atau pemotongan-enzim, sedangkan elektroforesis vertikal digunakan untuk memisahkan protein. Bahan yang digunakan dalam elektroforesis horizontal meliputi gel agarosa dan *staining* berupa *ethidium bromide*. Untuk metode

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

elektroforesis vertikal biasanya menggunakan gel poliakrilamid dengan bantuan pewarna fragmen berupa *silver staining* (Zein dan Prawiradilaga, 2013).

Secara umum, proses elektroforesis memiliki konsep perpindahan molekul berdasarkan aliran listrik. Alat elektroforesis didesain memiliki kutub negatif menuju kutub postif. Hal tersebut berfungsi untuk memfasilitasi perpindahan molekul DNA yang bermuatan negatif. Selain itu, proses elektroforesis memungkinkan adanya perpindahan molekul DNA berdasarkan ukuran. Ukuran DNA yang relatif kecil lebih cepat berpindah dibandingkan molekul yang lebih besar. Perbedaan molekul tersebut mengakibatkan pembentukan *band* yang memiliki panjang basa tertentu. Setelah proses elektroforesis, visualisasi hasil dapat dilihat menggunakan bantuan sinar *ultraviolet* (Zein dan Prawiradilaga, 2013).

2.5.4. *Sequencing*

Pada rangkaian proses analisis DNA, dibutuhkan *sequencing* untuk menyejajarkan basa nukleotida. Istilah sekuensing DNA mengacu pada pengurutan basa adenin, guanin, sitosin, dan timin yang terkandung dalam molekul DNA. Keberhasilan sekuensing DNA mampu menentukan struktur dari setiap produk gen dan menggambarkan setiap bagian terkecil dari organisme (Kumar, 2012).

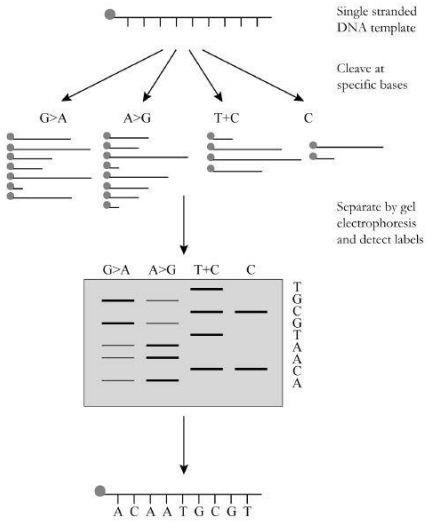
Sekuensing memiliki dua metode yang biasa digunakan, yakni :

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

a. Metode Maxam-Gilbert

Pada tahun 1977, metode sekuensing berbasis kimia diperkenalkan oleh Allan Maxam dan Walter Gilbert. Metode tersebut menggunakan molekul DNA berlabel ^{32}P atau fosfat radioaktif yang berperan dalam perusakan dan penghilangan basa dari gula. Proses sekuensing Maxam-Gilbert menggunakan teknik elektroforesis dengan gel poliakrilamida untuk analisis fragmen-fragmen DNA. Reaksi pertama (G>A) mampu mendeteksi basa G dan A DNA, tetapi basa G lebih kuat sehingga menghasilkan pita gelap. Di sisi lain, pita lemah dengan kontras lebih cerah menunjukkan deteksi basa A. Reaksi kedua (A>G) memiliki hasil yang berlawanan dengan reaksi pertama, dimana basa A lebih kuat dari G. Pada reaksi ketiga (C+T), fragmen DNA berpisah dengan efisien pada basa C dan T, sedangkan yang reaksi keempat (C) hanya mempengaruhi basa C. Keempat reaksi ini memberikan kontribusi besar terkait informasi urutan DNA dari autoradiograf gel (Blomstergren, 2003). Namun seiring berjalannya waktu, metode Maxam-Gilbert mulai jarang diaplikasikan sebab sifat radioaktif yang berbahaya (Zein dan Prawiradilaga, 2013).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id



Gambar 2.7 Sekuensing metode Maxam-Gilbert
Sumber : (Blomstergren, 2003)

b. Metode *Sanger*

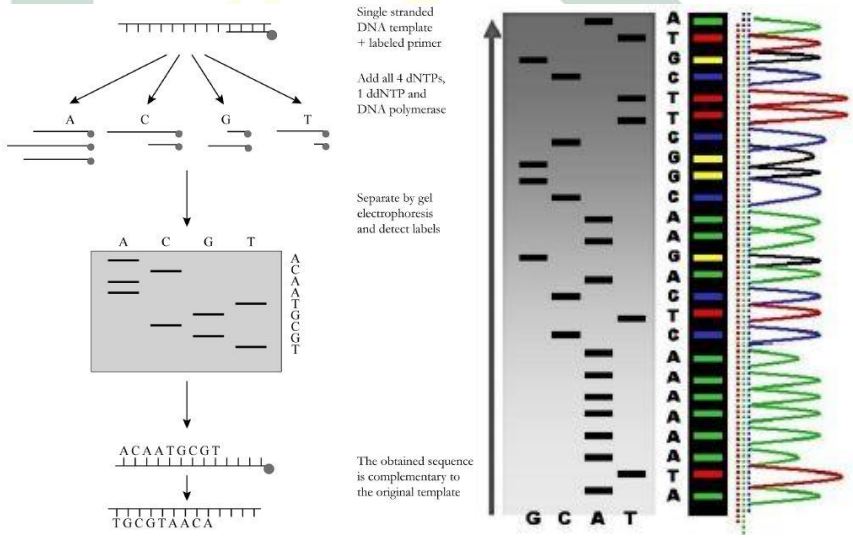
Metode sekuensing Sanger memiliki teknik yang hampir sama dengan Maxam-Gilbert, dimana proses sekuensing memerlukan empat reaksi dengan berbeda. Akan tetapi metode Sanger bersifat lebih efektif dan spesifik yang mampu menghasilkan empat fragmen DNA berbeda melalui deteksi autoradiografi. Keunggulan metode Sanger yang lain terletak pada modifikasi label ^{32}P oleh fluorofor, sehingga memungkinkan penggunaan satu jalur. Inovasi pengenalan pewarna transfer energi (ET) juga meningkatkan efektifitas proses sekuensing (Blomstergren, 2003).

Metode Sanger dapat disebut metode *dideoxynucleotide* atau *chain termination* karena metode ini menggunakan dideoksinukleotida (ddNTP) yang bersifat terminator bagi rantai DNA. Hal tersebut dikarenakan dideoksinukleotida tidak memiliki gugus –OH bebas

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

pada 3’ ribosa, sehingga tidak ada fosfat yang ditambahkan dan perpanjangan rantai DNA dihentikan (Blomstergren, 2003).

Pada dasarnya, prinsip sekuensing metode Sanger sama seperti teknik PCR. DNA *template* mengalami amplifikasi dengan bantuan enzim dan bahan lain yang dibutuhkan pada PCR. Dalam proses sekuensing membutuhkan beberapa reagen tambahan agar terjadi proses *cycle sequencing*. *Cycle sequencing* ini hanya memerlukan satu primer untuk pembacaan satu arah dan tambahan ddNTP sebagai pengganti dNTP (Zein dan Prawiradilaga, 2013).



Gambar 2.8 Mekanisme dan hasil sekuensing metode Sanger
Sumber : (Blomstergren, 2003; Kumar, 2012)

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian deskriptif eksploratif karena peneliti ingin menemukan hal baru terkait kadungan bakteri air liur anjing dan kucing peliharaan tanpa dan dengan vaksinasi. Adapun metode sampling menggunakan kuisioner *Google Form* dari para pemilik hewan peliharaan anjing dan kucing. Kriteria inklusi penelitian ini mencakup anjing dan kucing peliharaan bukan ras, lahir, tumbuh, serta tinggal di Kota Surabaya. Setelah satu minggu, diperoleh tiga dari tiga belas responden telah memenuhi kriteria inklusi. Seorang responden menyatakan kesediaan atas satu anjing tidak divaksin, seorang mengajukan satu kucing peliharaan tidak divaksin, dan seorang pemilik klinik bersedia untuk satu anjing dan satu kucing yang telah divaksinasi.

3.2 Waktu dan Tempat

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2019 – Januari 2021, sedangkan lokasi penelitian bertempat pada Laboratorium Terintegrasi UIN Sunan Ampel Surabaya. Jadwal terkait kegiatan penelitian secara sistematis pada tabel 3.1 berikut :

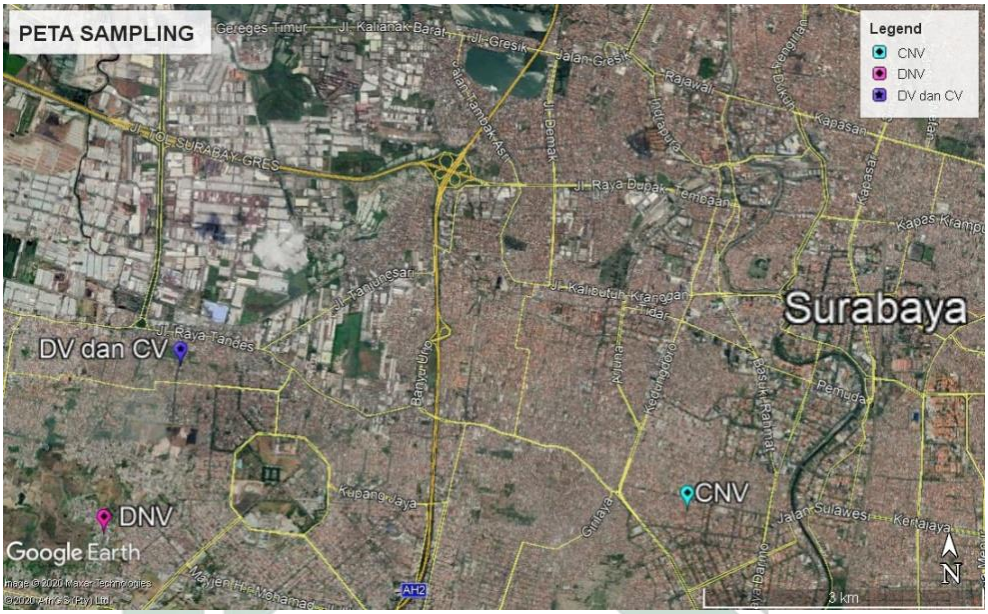
digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Tabel 3.1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

No.	Kegiatan	Bulan (tahun 2019/2020/2021)										
		8	9	10	11	12	1	2	3	11	12	1
1.	Persiapan kepustakaan											
2.	Pembuatan draft proposal skripsi											
3.	Seminar proposal											
4.	Koleksi sampel											
5.	Pembuatan media											
6.	Inokulasi											
7.	Inkubasi											
8.	Inokulasi pada media cair											
9.	Inkubasi											
10.	Ekstraksi DNA											
11.	Pengukuran kadar DNA											
12.	Amplifikasi PCR											
13.	Elektroforesis											
14.	Visualisasi hasil elektroforesis											
15.	Sekuensing											
16.	Analisis data											
17.	Pembuatan draft penelitian											
18.	Seminar hasil penelitian											

Sampel air liur anjing dan kucing yang diambil meliputi daerah Surabaya Barat dan Surabaya Pusat secara acak tanpa memilih kriteria umur atau jenis kelamin. Koleksi sampel berupa air liur kucing peliharaan tidak divaksin terletak di rumah salah satu warga Surabaya Pusat dan sampel dari anjing peliharaan tidak divaksin bertempat di rumah warga Surabaya Barat, sedangkan pengambilan sampel untuk anjing dan kucing peliharaan yang divaksin berlokasi di klinik hewan wilayah Surabaya Barat. Hasil koleksi sampel dibedakan menggunakan kode CNV untuk kucing tidak divaksin, DNV untuk anjing tidak divaksin, serta bagi kucing dan anjing divaksin yakni CV dan DV. Adapun peta pengambilan sampel dapat dilihat pada gambar 3.1 berikut ini :

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id



Gambar 3.1 Peta Lokasi Pengambilan Sampel
Sumber : (Google Earth, 2020)

3.3 Alat dan Bahan

Alat yang dibutuhkan meliputi *tweezer*, neraca analitik, erlenmeyer, pengaduk, cawan petri, jarum ose, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *collection tube*, tabung eppendorf 0.2 mL; 1.5mL; dan 15mL, *freezer*, *sentrifuge* ThermoScientific™ HERAEUS Fresco21, *thermocycler* MultiGene OptiMAX Labnet, *Laminar Air Flow* (LAF), bunsen, pemantik api, mikropipet Labnet ukuran 1000 µL; 200 µL; 20 µL; dan 10 µL, tip mikropipet biru; kuning; putih, *water bath*, vortex *mixer*, spektrofotometer BioDrop, *submarine electrophoresis system* Mupid-EX, spidol permanen tipe F, gabus, parafilm, serta selotip.

Bahan-bahan yang diperlukan adalah kapas, kasa, sampel berupa air liur anjing dan kucing dengan 3 kriteria yaitu; liar; dipelihara tidak divaksin; dipelihara dan divaksin, alkohol 70%, serbuk media kultur spesifik bakteri gram negatif *MacConkey Agar* (MCA) HIMEDIA®, media cair *Nutrient*

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Broth (NB) Merck®, akuades, larutan infus NaCl 0,9 %, spirtus, *plastic wrap*, *aluminium foil*, kertas label, tisu, kit ekstraksi *Wizard Genomic Purification* Promega©, isopropanol, etanol 70%, kit PCR *GoTaq Green Master Mix*®, *Nuclease Free Water*, ddH_2O, larutan *buffer* TBE Thermoscientific, serbuk agarosa Thermoscientific, *staining gel* Diamond™ Promega©, *loading dye* Promega©, marker DNA *GeneRuler* 1 kb *Plus* Themoscientific, serta primer *forward* dan *reverse* sesuai pada tabel 3.2 ini :

Tabel 3.2 Susunan basa primer *forward* dan *reverse*

Primer	5' – 3'	Amplikon	Referensi
27 F	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG	1464 bp	(Weisburg *et al.*, 1991)
1492 R	GGT TAC CTT GTT ACG ACT T		

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Koleksi Sampel

Kegiatan pengambilan sampel berasal dari air liur anjing dan kucing dengan dua kriteria, yakni dipelihara tanpa vaksinasi dan dipelihara dengan vaksinasi. Wilayah pengambilan sampel dilakukan di beberapa rumah warga dan klinik hewan Kota Surabaya. Sampel air liur diambil menggunakan *tweezer* dengan ujung berbalut kapas dan kasa steril yang dihimpitkan pada *vestibular cavity* (antara mulut dan pipi). Sampel yang diperoleh kemudian disimpan pada tabung eppendorf 15mL.

3.4.2 Kultur Bakteri

a. Persiapan media *MacConkey Agar* (MCA) HIMEDIA©

1) Ditimbang 0,77325 gram serbuk MCA.

2) Ditambahkan akuades sebanyak 15 mL.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

3) Dihomogenkan hingga larut.

4) Diautoklaf media dalam erlenmeyer dengan penutup kapas dan *aluminium foil* pada suhu 121° C dan waktu 20 menit.

5) Dituang media yang masih berbentuk cair pada cawan petri.

6) Didiamkan hingga memadat.

b. Inokulasi

1) Disiapkan larutan infus NaCl 0,9% sebanyak 9 mL pada tabung reaksi.

2) Diambil sampel air liur hewan sebanyak 1 mL.

3) Dilakukan pengenceran sampel dari 10^{-1} sampai 10^{-3} hingga teresuspensi.

4) Dituang 1 mL suspensi 10^{-3} pada media MCA.

5) Diratakan suspensi bakteri dengan teknik *spread*.

6) Ditutup cawan petri dengan dilapisi *plastic wrap*.

c. Inkubasi

Inkubasi dilakukan pada suhu ruang dalam waktu 2 x 24 jam dengan posisi cawan terbalik.

d. Persiapan media *Nutrient Broth* (NB) Merck©

1) Ditimbang 5 mL pelet NB.

2) Ditambahkan akuades sebanyak 10 mL.

3) Dihomogenkan hingga larut.

4) Diautoklaf media dalam tabung reaksi dengan penutup kapas dan *aluminium foil* pada suhu 121° C dan waktu 20 menit.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

5) Didinginkan pada suhu ruang.

e. Inokulasi koloni ke media NB

1) Diambil satu jenis koloni dengan ose.

2) Diinokulasikan pada tabung reaksi berisi media NB.

3) Ditutup dengan penutup kapas dan *aluminium foil* serta dilapisi *plastic wrap*.

f. Inkubasi

Inkubasi dilakukan pada suhu ruang dalam waktu 2 x 24 jam hingga media cair terlihat lebih keruh. Media divortex untuk melarutkan suspensi ketika biakan akan digunakan.

3.4.3 Ekstraksi DNA

a. Isolasi DNA bakteri gram negatif menggunakan protokol Promega©

1) Ditambahkan biakan bakteri 1 mL pada tabung eppendorf 1,5 mL.

2) Di*sentrifuge* 13.000-16.000 x g selama 2 menit dan dibuang supernatan.

3) Diinkubasi pada suhu 80˚C selama 5 menit dan didinginkan pada suhu ruang.

4) Ditambahkan 3 µL *RNase Solution* pada sel daan diinversi 2-5 kali.

5) Diinkubasi pada suhu 37 ˚C selama 15-60 menit pada suhu ruang.

6) Ditambahkan *Protein Precipitation Solution* sebanyak 200 µL.

7) Divortex selama 20 detik.

8) Diinkubasi selama 5 menit.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

9) Di*sentrifuge* 13.000-16.000 x g selama 3 menit.
10) Dipindahkan supernatan pada tabung eppendorf 1.5 mL baru dengan isopropanol sebanyak 600 µL pada suhu ruang.
11) Diinversi perlahan sampai terbentuk benang DNA.
12) Di*sentrifuge* 13.000-16.000 x g selama 2 menit.
13) Dibuang supernatan dan dikering-anginkan tabung.
14) Ditambahkan etanol 600 µL pada pellet dan diinversi perlahan.
15) Di*sentrifuge* 13.000-16.000 x g selama 2 menit.
16) Dibuang etanol dan tabung berisi pellet dikering anginkan selama 10-15 menit.
17) Ditambahkan DNA *Rehydration Solution* 100 µL.
18) Diinkubasi pada suhu 65˚C selama 1 jam.
19) Dicampur larutan secara berkala dengan perlahan atau dapat diinkubasi dalam waktu semalam pada suhu ruang atau 4 ˚C.
20) Disimpan DNA pada suhu 2-8 ˚C.

b. Uji Kemurnian DNA

Penentuan kemurnian DNA dilakukan dengan bantuan spektrofotometer BioDrop®. Mula-mula, spektrofotometer di*blanko* dengan larutan standar DNA *Rehydration Solution*. Setelah itu, sampel sebanyak 1 µL diteteskan pada kuvet dan dilakukan analisis kemurnian DNA pada λ 260/280 nm dan konsentrasi DNA.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

3.4.4 Amplifikasi PCR

Amplifikasi PCR menggunakan protokol *GoTaq Green Master Mix*®. Pembuatan *cokctail* PCR terdapat pada tabel 3.3 di bawah ini:

Tabel 3.3 Komposisi *cocktail* PCR

Bahan	Volume per sampel
Go Taq Green Master Mix®	12,5 µL
Primer *forward*	1 µL
Primer *reverse*	1 µL
DNA *template*	5 µL
Nuclease Free Water	5,5 µL
Total	25 µL

Setelah pembuatan *cocktail* PCR, proses amplifikasi PCR dilakukan dengan menggunakan *thermal cycler* ThermalScientific. Adapun pengaturan suhu dan waktu terkait reaksi PCR mengikuti protokol seperti tabel 3.4 dan 3.5 berikut:

Tabel 3.4 Proses reaksi PCR sampel 1, 2, 5, 7, 8

Proses	Pre-denaturasi	Denaturasi*	Annealing*	Elongasi*	Post-elongasi
Suhu	94°C	95 °C	55 °C	72 °C	72 °C
Waktu	90 detik	30 detik	30 detik	90 detik	10 menit

*dilakukan pengulangan siklus 35x

Tabel 3.5 Proses reaksi PCR sampel 3, 4, 6

Proses	Pre-denaturasi	Denaturasi*	Annealing*	Elongasi*	Post-elongasi
Suhu	95°C	95 °C	55 °C	72 °C	72 °C
Waktu	5 menit	60 detik	60 detik	90 detik	7 menit

*dilakukan pengulangan siklus 30x

3.4.5 Elektroforesis

a. Elektroforesis

Tahap elektroforesis menggunakan spesifikasi alat Thermoscientific. *Running* elektroforesis membutuhkan gel agarosa dengan konsentrasi 2% yang memiliki komposisi 1 g serbuk agarosa dalam 5 mL *buffer* TBE dan 45 mL akuades steril. Berikut tahapan elektroforesis :

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

1) Dilarutkan serbuk agarosa 1 gr dengan larutan *buffer* TBE dan akuades 50mL pada erlenmeyer.
2) Diaduk dan dipanaskan hingga mendidih.
3) Didinginkan hingga setengah hangat.
4) Diteteskan *staining gel* Diamond™ sebanyak 10µl.
5) Dituangkan pada cetakan gel elektroforesis dengan *comb*.
6) Didiamkan sampai memadat.
7) Diambil *comb* pada cetakan dan diletakkan agarosa pada alat elektroforesis.
8) Dituangkan larutan *buffer* TBE sampai menutup permukaan agarosa.
9) Dimasukkan *marker* pada *well* pertama.
10) Dihomogenkan produk PCR dengan *loading dye* dengan perbandingan 3:1.
11) Dimasukkan *mixture* dalam setiap *well* agarosa yang berbeda.
12) Dilakukan *running* elektroforesis dengan tegangan 50 V selama 75 menit.

b. Visualisasi hasil elektroforesis

Setelah proses *running* elektroforesis, gel agarosa divisualisasikan dengan bantuan sinar UV-*trans illuminator* menggunakan Enduro *gel documentation* dan didokumentasikan dengan kamera yang tersambung pada PC.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

3.4.6 *Sequencing*

Proses *sequencing* menggunakan jasa perusahaan *sequencer* 1st Base Malaysia dengan melakukan rangkaian prosedur sebagai berikut:

a. Registrasi dengan menghubungi pihak PT Genetika Science.
b. Mengisi form yang telah diberikan.
c. Mengirim sampel kepada alamat tertera.

Setelah proses *sequencing*, pihak 1st Base akan memberi laporan hasil berupa via pesan elektronik terkait dengan format .seq dan .abi.

3.5 Analisis

Hasil sekuensing yang diperoleh kemudian diolah dengan bantuan *software* BioEdit dan MEGA (*Molecular Evolutionary Genetic Analysis*). Setelah itu, file disimpan dan dicocokan melalui proses BLAST pada laman NCBI (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi). Penentuan spesies ditinjau dari nilai *Query Cover*. Apabila nilai $\geq$ 99% menandakan hasil identifikasi berada dalam satu spesies sesuai dengan hasil *database*, sedangkan $\geq$ 97% mengisyaratkan hasil sekuens nukleotida berada dalam taksa genus yang sama (Drancourt *et al.*, 2000).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Koleksi Sampel

Pada proses pengambilan sampel air liur anjing dan kucing, pemilik telah diarahkan untuk mengisi kuisioner terkait hewan peliharaan masing-masing. Setelah itu, data yang terkumpul dijadikan sebagai rujukan untuk korelasi hasil dengan rekam jejak kebiasaan setiap hewan peliharaan. Rekap data tersebut mencakup beberapa informasi seperti pada tabel 4.1 di bawah ini :

Tabel 4.1 Informasi Hewan Peliharaan

KRITERIA	CNV	DNV	DV	CV
Jenis hewan	Kucing	Anjing	Anjing	Kucing
Cara mendapatkan	Pemberian	Menemukan di lingkungan sekitar	Pemberian	Menemukan di lingkungan sekitar
Usia				
1. Lama memelihara	1 th 1 bln	10 th	11th 2 bln	2 bln
2. Umur	2 th 1 bln 5 hr	10 th 5 bln 1 hr	12 th 2 bln 6 hr	3 bln 2 hr
Jenis kelamin	Jantan	Betina	Betina	Betina
Konsumsi makanan				
1. Jenis pakan	Buatan, kemasan	Buatan	Buatan	Kemasan
2. Model pakan	*Wet, dry*	*Wet, dry*	*Wet, dry*	*Wet, dry*
Pemeriksaan kesehatan				
1. Sakit	Flu, 1 th lalu	Tidak	Tumor, 1 bl lalu	Diare
2. Luka	Kebiri	Tidak	Operasi	Ya
3. Gangguan periodontal	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
4. Rutin ke dokter hewan	Ya	Ya	Ya	Ya
5. Vaksinasi	Tidak	Tidak	Ya	Ya
a. Waktu vaksinasi terakhir	-	-	7 hari lalu	22 hari lalu
b. Jenis vaksin	-	-	Eurican 7	Purevax
Kontak lingkungan				
1. Aktivitas	*Indoor*	*Indoor*	*Indoor*	*Indoor*
2. Orang lain	Keluarga, teman	Keluarga, teman	Dokter hewan	Dokter hewan
3. Hewan lain	Kucing peliharaan	Anjing peliharaan	Tidak	Anjing peliharaan

Keterangan : CNV= *cat non vaccine*, DNV= *dog non vaccine*, DV= *dog vaccine*, CV= *cat vaccine*
Sumber : (Dokumentasi Pribadi, 2020)

Berdasarkan tabel di atas, sampel CNV berasal dari kucing peliharaan jantan tidak divaksin berusia 2 tahun 1 bulan 5 hari. Kucing tersebut

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

mengonsumsi *wet food* (pakan buatan pemilik) dan *dry food* (pakan kemasan). Adapun kondisi kesehatannya tidak ada gangguan serius selama satu tahun terakhir akibat sakit atau luka. Kucing CNV merupakan hewan *indoor* yang hanya berkontak dengan keluarga, teman pemilik, dan sesama kucing peliharaan lain. Sementara itu, sampel DNV dari anjing tidak divaksin berjenis kelamin betina berusia 10 tahun 5 bulan 1 hari. Anjing peliharaan ini mengonsumsi pakan basah buatan yang disediakan pemilik dan *snack* komersial dalam bentuk makanan kering. Kondisi kesehatan anjing DNV sangat baik, ditandai dengan tidak adanya gangguan kesehatan sama sekali. Aktivitasnya hanya seputar aktivitas dalam rumah dengan beberapa kali melakukan kontak dengan keluarga dan teman pemilik, serta sesama anjing peliharaan.

Sampel DV diambil dari anjing peliharaan yang memperoleh vaksinasi rutin (Eurican 7) seminggu yang lalu. Sebelum mendapatkan vaksinasi rutin, anjing DV menderita tumor dan telah mendapat tindakan operasi pada bulan lalu. Anjing tersebut merupakan betina dewasa berusia 12 tahun 2 bulan 6 hari yang biasa mengonsumsi pakan basah buatan dan *snack* kering komersial. Anjing ini termasuk peliharaan *indoor* yang hanya memiliki kontak dengan orang rumah dan dokter hewan selama masa pengobatan.

Pada sampel CV, saliva didapatkan dari kucing peliharaan yang telah melewati tahap vaksinasi (Purevax) untuk yang pertama kali sekitar 22 hari lalu. Beberapa hari setelah vaksinasi, kucing peliharaan tersebut mengalami

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

diare sebagai respon awal vaksinasi. Kucing ini berjenis kelamin betina berusia 3 bulan 2 hari. Konsumsi pakan rutin berupa *wet food* buatan pemilik dan *dry food* kemasan. Kucing CV mempunyai aktivitas dalam ruangan yang berkontak dengan orang rumah dan anjing peliharaan, serta dokter hewan saat mengunjungi klinik.

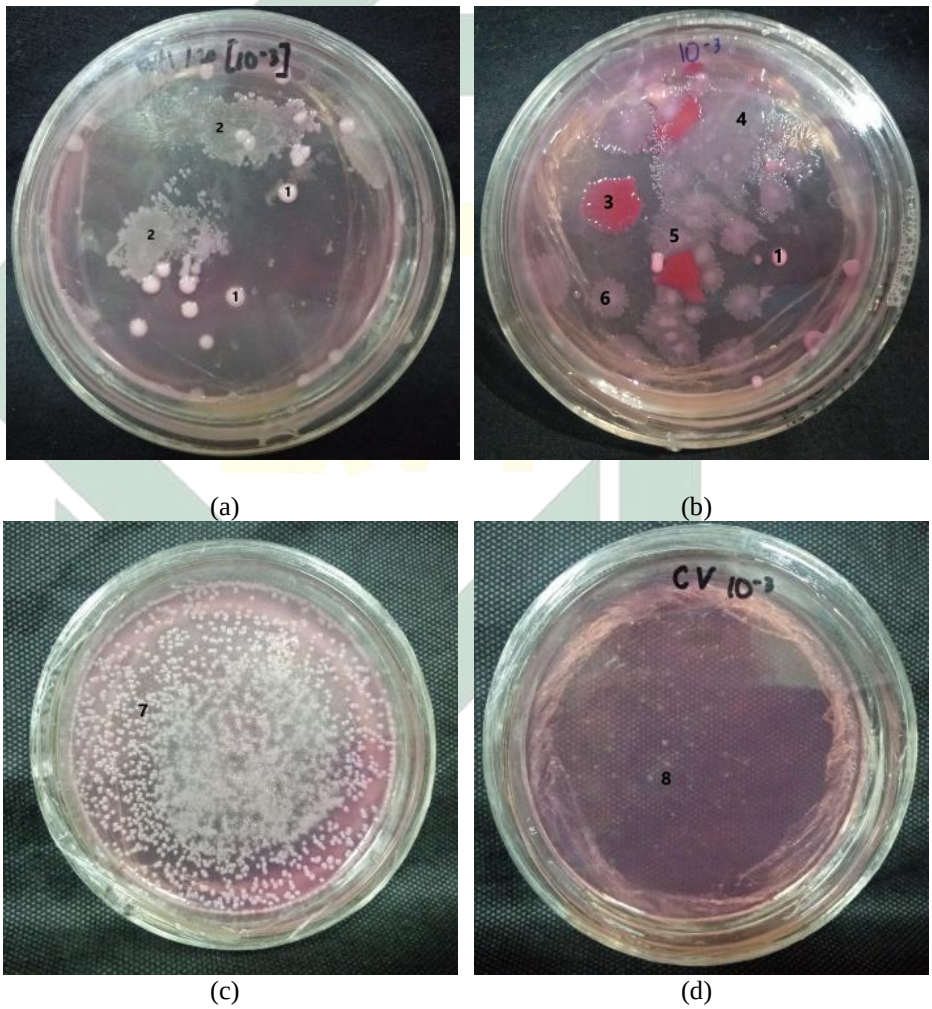
4.2 Kultur Bakteri Media MCA

Identifikasi bakteri dalam kandungan saliva hewan peliharaan tidak serta merta memberikan koloni spesifik. Oleh sebab itu, media untuk memenuhi kebutuhan nutrisi bakteri target perlu disesuaikan (Lestari *et al.*, 2018). Penelitian kali ini berfokus pada pertumbuhan bakteri gram negatif, sehingga membutuhkan media yang mendukung pertumbuhan bakteri gram negatif pula. Salah satu media yang tepat untuk menumbuhkan bakteri gram negatif adalah *MacConkey Agar*.

MacConkey Agar (MCA) merupakan salah satu media selektif untuk membedakan bakteri gram negatif sebab mengandung garam empedu yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Selain garam empedu, MCA memiliki komposisi lain berupa 1% laktosa dan 0,0025% pewarna *neutral red* (Corry *et al.*, 2003). Kedua substansi tersebut berguna untuk membedakan bakteri gram negatif yang mampu memfermentasikan laktosa maupun yang tidak. Koloni bakteri fermentor laktosa cenderung berwarna merah, sedangkan bakteri non fermentor cenderung tidak berubah warna. Oleh sebab itu, media ini juga digolongkan sebagai media diferensial (Engelkirk dan Duben-Engelkirk, 2008).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Pada media MCA berisi sampel air liur kucing tidak divaksin menunjukkan pertumbuhan dua koloni bakteri dan lima koloni pada sampel air liur anjing tidak divaksin. Di sisi lain, pada media MacConkey dengan sampel air liur hewan peliharaan divaksin memperoleh masing-masing satu koloni untuk anjing dan kucing. Hasil kultur bakteri tersebut dapat diamati pada gambar 4.1 berikut :



Gambar 4.1 Koloni terbentuk pada media MCA : (a) CNV, air liur kucing peliharaan tidak divaksin; (b) DNV, air liur anjing peliharaan tidak divaksin; (c) DV, air liur anjing peliharaan divaksin; dan (d) CV, air liur kucing peliharaan tidak divaksin
Sumber : (Dokumentasi Pribadi, 2020)

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Adapun pengamatan makroskopik koloni yang terbentuk berdasarkan kriteria Talaro (2007) dan Dwidjoseputro (1990) seperti pada tabel 4.2 di bawah ini :

Tabel 4.2 Hasil Pengamatan Makroskopis Koloni

Koloni	Kode	Asal Isolat	Ukuran	Pigmentasi	Bentuk	Margin	Elevasi
1	CNV 1	Kucing dan anjing tidak divaksin	Besar	Merah muda	Bulat	Utuh	Mencembung
2	CNV 2	Kucing tidak divaksin	Besar	Merah muda	Ireguler	Utuh	Melengkung
3	DNV 3	Anjing tidak divaksin	Besar	Kemerahan	Bulat	Utuh	Melengkung
4	DNV 4	Anjing tidak divaksin	Besar	Putih	Ireguler	Utuh	Mencembung
5	DNV 5	Anjing tidak divaksin	Besar	Putih transparan	Bulat	Utuh	Mencembung
6	DNV 6	Anjing tidak divaksin	Besar	Putih pucat	Rhizoid	Utuh	Mencembung
7	DV 7	Anjing divaksin	Sedang	Putih	Bulat	Utuh	Melengkung
8	CV 8	Kucing divaksin	Pinpoint	Putih	Ireguler	Utuh	Mencembung

Sumber : (Dokumentasi Pribadi, 2020)

Berdasarkan hasil gambar 4.1, pertumbuhan koloni yang berasal dari air liur kucing dan anjing membuktikan kondisi mulut kucing lebih bersih dari bakteri gram negatif dibandingkan anjing dengan asumsi keduanya adalah hewan *indoor* tanpa gangguan periodontal dan mengonsumsi jenis pakan serupa (tabel 4.1). Pernyataan tersebut didukung oleh Garcia-Mazcorro dan Minamoto (2013) yang membandingkan kelimpahan bakteri gram negatif dalam sistem pencernaan anjing lebih banyak daripada kucing. Selain itu, dalam penelitian Garcia-Mazcorro *et al.* (2012) menyatakan bahwa kelimpahan mikrobiota sistem pencernaan anjing peliharaan ras campuran mencakup dua filum besar dari golongan gram positif lainnya, yakni Firmicutes dan Actinobacteria.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Dominasi jumlah bakteri pada anjing dapat disebabkan oleh tingkat agresivitas anjing untuk mengembangkan kemampuan diri. Ketika menjadi hewan peliharaan *indoor*, anjing tetap ekpresif dengan benda-benda di sekelilingnya. Anjing dapat memungut, menjilat, atau mengunyah barang di sekitarnya (Zilocchi *et al.*, 2016). Kebiasaan inilah yang mampu meningkatkan kontak bakteri terhadap anjing. Korelasi tersebut juga didukung dengan seringnya anjing membuka mulut dan terengah-engah agar mengimbangi pelepasan panas tubuh di sela aktivitas fisiknya (Siswanto, 2016). Di sisi lain, kucing cenderung memiliki sedikit aktivitas fisik. Fraser (2012) menerangkan aktivitas fisik kucing hanya seputar berlarian antar ruangan, memanjat benda, atau mengejar benda bergerak yang jarang dilakukan. Kucing menghabiskan hampir sepanjang waktunya saat terjaga untuk meregangkan tubuh, membersihkan diri, dan menjalin komunikasi dengan pemiliknya. Berdasarkan pernyataan yang telah dipaparkan, aktivitas anjing dinyatakan lebih banyak memiliki kontak fisik dengan benda sekitarnya. Kondisi ini memungkinkan bakteri pada permukaan benda masuk melalui rongga mulut dan terkandung dalam *whole* saliva anjing.

Di sisi lain, hasil berupa kultur dari seluruh sampel pada gambar 4.1 menunjukkan bahwa jumlah koloni bakteri gram negatif pada air liur hewan peliharaan divaksin lebih sedikit daripada air liur hewan tanpa vaksin. Hal tersebut dikarenakan vaksin berperan untuk mencegah infeksi virus dan menghalau serangan agen penyakit lain (Roth, 2011). Menurut Pudjiatmoho *et al.* (2014) dalam buku Indeks Obat Hewan Indonesia menerangkan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

komposisi vaksin pada hewan hampir sama dengan vaksin manusia, yakni berasal dari virus aktif maupun inaktif dalam kadar yang mampu memicu peningkatan imunitas.

Kucing dan anjing sebagai hewan peliharaan paling digemari manusia cenderung mudah terpapar antigen penyebab gangguan pernapasan dan pencernaan yang berkaitan erat dengan membran mukosa, terutama bagian rongga mulut yang sering berkontak dengan lingkungan sekitar. Keadaan ini mendasari urgensi vaksinasi pada hewan yang dikembangkan untuk berbagai aspek, salah satunya mencegah penularan zoonosis dari hewan peliharaan ke pemilik serta melindungi peliharaan dari patogen. Isolat dalam cawan CV merupakan hasil kultur sampel dari kucing peliharaan yang baru divaksinasi dengan vaksin komersial Purevax®. Vaksin tersebut bertujuan untuk mencegah penyakit pencernaan dan pernapasan yang disebabkan panleukopenia, herpesvirus, serta *Feline calcivirus* (Pudjiatmoho *et al.*, 2014). Isolat DV diperoleh dari anjing peliharaan yang telah divaksinasi secara rutin dengan Eurican 7 DHPPi2-LR®, sehingga dapat mencegah agen penyakit *distemper*, hepatitis, *parvovirus*, rabies, *parainfluenza*, dan leptospirosis yang mampu mengakibatkan gangguan kesehatan berupa demam (Pudjiatmoho *et al.*, 2014).

Hubungan antara vaksinasi dengan jumlah koloni bakteri yaitu adanya pengaruh terhadap jumlah koloni, sebab hewan yang telah terinfeksi virus akan lebih mudah mengalami infeksi sekunder oleh bakteri (Lappin *et al.*, 2017). Plotkin *et al*. (2008) menjelaskan bahwa vaksin memiliki sedikit

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

komposisi antibiotik. Antibiotik biasa terkandung sebagai residu yang disisakan dalam sejumlah kecil *part per billion* volume akhir vaksin utuh. Hal tersebut dikarenakan penggunaan antibiotik untuk mencegah kontaminasi mikroorganisme asing dalam proses pembuatan vaksin. Selain vaksinasi, kondisi lingkungan juga memberikan dampak terhadap kelimpahan flora dalam mulut hewan peliharaan. Stull *et al.* (2016) memaparkan adanya kontak dengan sesama hewan peliharaan atau orang lain mampu meningkatkan resiko tertular penyakit.

Menurut Lambertini *et al.* (2016) peran anjing dan kucing sebagai pembawa patogen terbilang unik jika dibandingkan dengan hewan lain seperti ternak. Anjing dan kucing sebagai peliharaan mudah berinteraksi dengan sang pemilik, baik di perkotaan maupun pedalaman. Selain itu, hewan peliharaan tersebut sering berbagi lingkungan tinggal dan waktu makan bersama setiap saat. Hewan peliharaan cenderung penurut dan hanya mengkonsumsi makanan yang disediakan khusus oleh sang pemilik. Dari jalur tersebut, transmisi penyebaran zoonosis dapat terjadi, meskipun tidak dapat dinyatakan sebagai penyebab primer. Dalam informasi U.S. Department of Health and Human Service (2013) pengaruh jenis pakan yang mengandung agen zoonosis dapat terkontaminasi melalui kontak permukaan atau barang tertentu, sementara untuk resiko penularan terkait hubungan rute transmisinya masih belum diketahui.

Kontaminasi bakteri melalui pakan hewan dapat diindikasikan dari penyakit yang diderita pemilik atau penghuni rumah lainnya secara

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

langsung maupun tidak langsung. Kontak langsung dapat terjadi melalui tangan sang pemilik langsung, seperti saat menyentuh pakan atau ketika memegang mangkuk makan. Kontak tidak langsung dapat ditularkan melalui lantai atau sendok sekop bekas makanan yang tidak rutin dibersihkan. Sebagai tambahan, hewan peliharaan mampu menyebarkan zoonosis melalui jalur *food borne*. Jika hewan peliharaan telah terinfeksi, maka saliva dan fesesnya mengandung sejumlah patogen yang berpotensi menular pada penghuni rumah (U.S. Department of Health and Human Service, 2013).

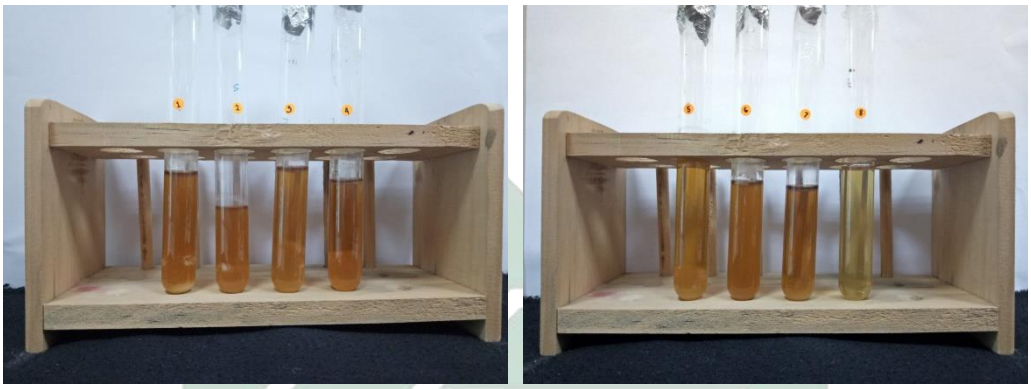
Dalam rangka meminimalisir potensi penyebaran zoonosis tersebut, pemilik hewan peliharaan diharapkan untuk menggunakan makanan kemasan kecil agar sekali habis. Sebab, penyimpanan makanan dalam jangka waktu lama memungkinkan adanya kontaminasi bakteri (U.S. Department of Health and Human Service, 2013).

4.3 Kultur Bakteri Media NB

Setelah inkubasi pada media MCA, setiap isolat bakteri diinokulasikan pada media *Nutrient Broth* (NB). Tahap ini dibutuhkan untuk membuat suspensi dan memenuhi rangkaian metode diagnostik molekuler. Media cair tersebut memiliki kandungan nutrisi tepat bagi pertumbuhan bakteri. Media NB cukup efisien untuk pertumbuhan macam-macam bakteri gram negatif. Pertumbuhan yang signifikan ditunjukkan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

dengan tingkat kekeruhan pada media sebagai tanda dalam mengetahui laju pertumbuhan kultur (Alkhfaji dan Alrazaq, 2018).



Gambar 4.2 Kultur bakteri pada media NB
Sumber : (Dokumentasi Pribadi, 2020)

Menurut Dwidjoseputro (1990), kultur bakteri pada media NB dapat memberikan informasi terkait jenis respirasi bakteri. Pertumbuhan koloni dari isolat 1 sampai 8 menunjukkan letak gumpalan koloni pada bagian tabung yang berbeda-beda. Isolat 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 menunjukkan gumpalan-gumpalan kecil koloni yang menyebar, menandakan bahwa bakteri tersebut termasuk anaerob fakultatif. Hal tersebut menandakan bahwa isolat 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 termasuk jenis bakteri yang melakukan respirasi dengan atau tanpa oksigen. Sementara isolat 7 membentuk gumpalan di bagian atas media cair mengindikasikan bahwa bakteri tersebut tergolong aerob obligat yang membutuhkan oksigen untuk respirasi.

4.4 Ekstraksi DNA

Pada umumnya, ekstraksi DNA memiliki tiga prinsip utama untuk memperoleh DNA murni. Dalam protokol yang tertera pada *Wizard Genomic Purification* milik Promega (2019) menyediakan beberapa larutan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

untuk mempermudah ekstraksi DNA. Prinsip pertama ekstraksi DNA yaitu pemisahan dari partikel debris yang mencakup sel beserta organel lain. Dalam hal ini *Nuclei Lysis Solution* berperan merusak struktur nukleus pada bakteri, sehingga seluruh materi genetik akan keluar dari nukleus untuk lebih mudah diekstrak. Menurut Loureiro *et al.* (2006), larutan lisis merupakan buffer yang berguna menjaga stabilitas dan melindungi DNA dari proses degradasi. Buffer tersebut umumnya memiliki komposisi berupa garam konsetrasi rendah untuk memberi lingkungan stabil, EDTA sebagai *chelator agent*, dan detergen non-ionik untuk mengeliminasi komponen sel lain (Surzycki, 2000).

Pada tahap kedua yakni dehidrasi dan presipitasi menggunakan *RNase Solution*. Surzycki (2000) menyatakan fungsi RNase untuk menghidrolisis RNA, sehingga RNA tidak tercampur dengan hasil akhir ekstraksi DNA. Tahap pemberian RNase tidak pernah diletakkan di langkah pertama, sebab kerja RNase optimal saat konsentrasi garam rendah. Pada konsentrasi NaCl di bawah 0,3 M, enzim dapat memecah RNA untai tunggal dan untai ganda. Hal tersebut sangat penting karena proses pemurnian DNA awalnya dilakukan pada konsentrasi garam tinggi, sehingga diperlukan beberapa langkah untuk menurunkan konsentrasi NaCl agar kandungan RNA dapat dihilangkan secara efektif.

Setelah pemberian RNase, tahap ekstraksi membutuhkan penambahan buffer yang bertujuan untuk menghilangkan kontaminasi protein dari sel lisis. Buffer yang memiliki label *Protein Precipitation Solution* berfungsi

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

dalam pengendapan protein dari sel. Protein yang memiliki massa molekul lebih berat dari DNA akan mengendap dengan bantuan sentrifuge yang mampu memisahkan larutan menggunakan kecepatan sentrifugal tinggi (Surzycki, 2000).

Tahap terakhir berupa pemisahan DNA menggunakan isopropanol dan etanol 70%. Teknik pemisahan DNA menerapkan fenomena presipitasi yang dapat dilakukan oleh kedua jenis alkohol tersebut. Isopropanol suhu ruangan mampu mengendapkan DNA dari debris terlarut. Hal ini dikarenakan berat molekul DNA lebih besar dibandingkan isopropanol. Akan tetapi, pengambilan seluruh isopropanol dari *tube* cukup sulit, sehingga membutuhkan etanol 70% yang mudah menguapkan larutan. Langkah ini bertujuan untuk pemurnian DNA melalui proses pencucian sebab etanol 70% memiliki kemampuan menarik larutan lain. Etanol 70% juga membantu pengumpulan DNA menjadi *pellet* (Surzycki, 2000).

Dalam protokol Promega© tercantum instruksi akhir berupa pelarutan DNA dilakukan dengan *DNA Rehydration Solution* yang berfungsi sebagai media penyimpanan DNA. Proses inkubasi pada suhu 65°C bertujuan untuk mempercepat rehidrasi DNA. Beberapa komponen *DNA Rehydration Solution* yang mampu menjaga stabilitas DNA adalah EDTA dan Tris. Fungsi keduanya saling berkesinambungan dalam menjaga kualitas DNA. EDTA mencegah terjadinya kesadahan berdasarkan kemungkinan pertukaran ion yang terkandung dalam komponen DNA, sedangkan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

senyawa Tris dapat menghambat kerja enzim (Surzycki, 2000; Desmarais *et al.*, 2002).

Selanjutnya dilakukan pengukuran kadar DNA menggunakan spektrofotometer dengan absorbansi 260/280. Hasil kemurnian dan konsentrasi DNA dapat dilihat pada tabel 4.3 di bawah ini :

Tabel 4.3 Kemurnian dan Konsentrasi DNA Isolat

Isolat	Kemurnian (λ260/280)	Konsentrasi (µg/mL)
CNV 1	1,883	1,065
CNV 2	1,734	3,462
DNV 3	1,736	1,061
DNV 4	2,013	1,391
DNV 5	1,950	0,718
DNV 6	2,009	0,199
DV 7	2,410	1,453
CV 8	1,715	0,369

Sumber : (Dokumentasi Pribadi, 2020)

Dari hasil tersebut, dapat diketahui bahwa tujuh dari delapan sampel memiliki DNA yang murni jika menganut Olson dan Morrow (2012) yang menyatakan tingkat kemurnian DNA melebihi angka 1,6 sampai 2,0 cukup baik. Hal tersebut dikarenakan tidak adanya kontaminasi fenol, protein, atau substansi lain yang mempunyai kemampuan absorbansi pada λ280nm. Sementara Sambrook *et al.*, (1989) menerangkan bahwa kisaran kemurnian DNA yakni 1,75-2,0. Pendapat lain disampaikan Hassan *et al.* (2015) tentang kemurnian DNA berada pada rasio 1,8-2,0. Namun perlu diketahui bahwa dalam interval tersebut memiliki kemungkinan adanya kontaminasi berupa RNA, sebab kemurnian RNA mencapai angka 1,6-1,9 dalam absorbansi λ260/280.

Umumnya, spektrofotometer menghitung konsentrasi DNA berdasarkan kelimpahan dsDNA (Li *et al.*, 2014). Kadar DNA yang tersaji

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

dalam tabel 4.3 menunjukkan kandungan DNA yang berhasil diekstrak memiliki konsentrasi cukup sedikit karena jumlahnya hampir mendekati 0. Berdasarkan penelitian Ruiz-Fuentes *et al.* (2015) konsentrasi DNA yang diperoleh untuk ekstraksi *Mycobacterium leprae* menggunakan kit Promega menempati posisi paling sedikit di antara tiga protokol lainnya. Pernyataan tersebut didukung dengan riset Lienhard dan Schäffer (2019) yang melaporkan hasil ekstraksi kit Promega dapat mengurangi 50% volume awal setelah melakukan serangkaian tahap ekstraksi dibandingkan enam kit yang lain.

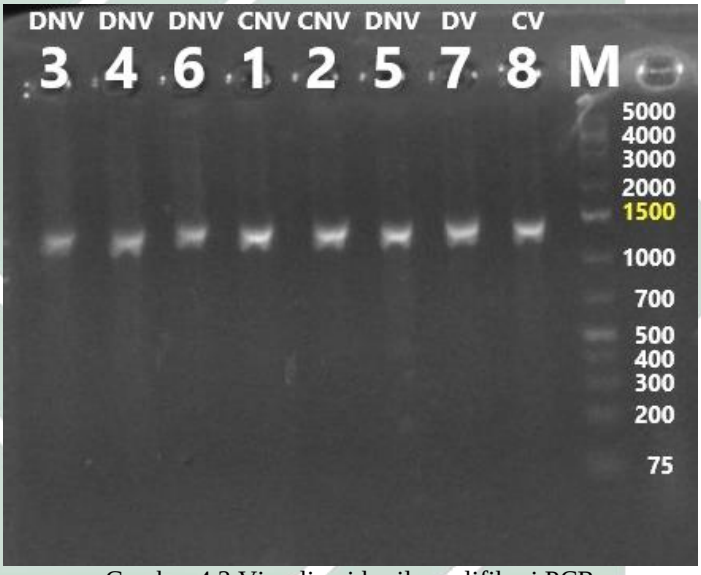
4.5 Hasil Amplifikasi PCR dan Elektroforesis

Pada proses amplifikasi PCR, beberapa sampel mempunyai optimasi berbeda dengan sampel lain berdasarkan pengaturan suhu dan waktu suatu siklus. Protokol-protokol sebelumnya memberikan hasil elektroforesis yang kurang sempurna. Sampel CNV 1, CNV 2, DNV 5, DV 7, dan CV 8 mengalami masalah terhadap *band* yang tak kunjung terlihat. Zein dan Prawiradilaga (2013) menjelaskan bahwa citraan hasil amplifikasi PCR yang tidak tampak dapat diatasi dengan pengaturan suhu yang lebih tinggi atau waktu yang lebih lama karena DNA belum terdenaturasi. Penyebab lain adalah siklus yang tidak tepat, sehingga dapat diatasi dengan peningkatan siklus secara bertahap hingga 35 kali.

Sementara sampel DNV 3, DNV 4, dan DNV 5 memiliki *band* yang tidak terbentuk sempurna dikarenakan beberapa faktor, seperti suhu

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

annealing yang tidak tepat ataupun jumlah siklus yang kurang sesuai. Koreksi suhu *annealing* dapat dilakukan secara bertahap dengan menaikan maupun menurunkan suhu per 1°C, sedangkan kesalahan siklus PCR dapat ditanggulangi dengan penambahan jumlah siklus (Zein dan Prawiradilaga, 2013). Optimasi suhu *annealing* yang tepat dalam penelitian ini yakni 55°C dan telah memberikan hasil pita padat berpendar seperti pada gambar 4.3 di bawah ini :



Gambar 4.3 Visualisasi hasil amplifikasi PCR
Sumber : (Dokumentasi Pribadi, 2020)

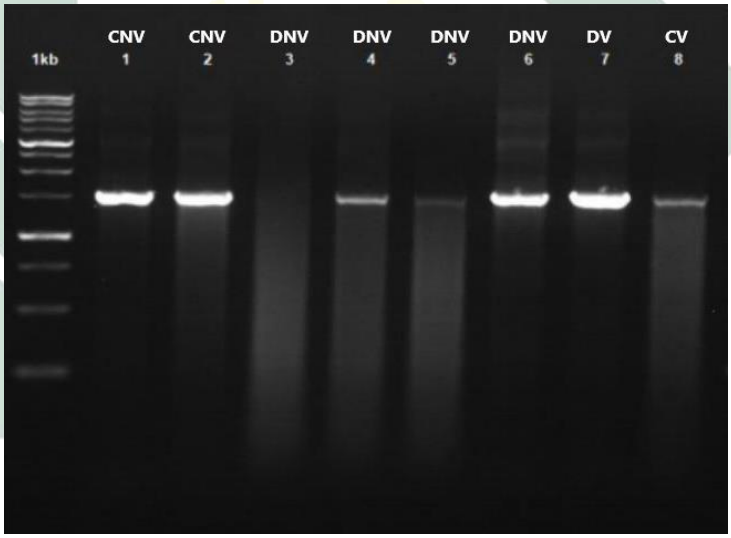
Hasil amplifikasi PCR menggunakan primer universal 27 F dan 1492 R dinilai sangat efektif, sebab mampu menunjukkan *band* tebal yang mempermudah dalam pembacaan hasil. Hal serupa telah dibuktikan oleh Pradhap *et al.* (2011) yang bisa mengamplifikasi gen 16S rRNA untuk deteksi *Salmonella enterotica typhi* dalam pencernaan ulat sutera dan Muharni *et al*. (2015) dalam mengidentifikasi bakteri termo-lipolitik

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

berbasis gen 16S rRNA, serta Kepel dan Fatimawali (2015) yang berhasil menentukan bakteri *E. coli* dengan analisis gen 16S rRNA.

Visualisasi hasil gambar 4.3 menunjukkan bahwa pita DNA terbentuk dalam kisaran angka 1.000 bp dan 1.500 bp. Sesuai dengan Weisburg *et al.* (1991) bahwa primer 27F dan 1492 R memiliki amplikon sepanjang 1.464 bp. Hasil citraan pita yang tebal menandakan produk PCR dapat dilanjutkan ke tahap *sequencing*.

4.6 *Sequencing*



Gambar 4.4 Hasil elektroforesis sebelum proses *sequencing*
Sumber : (1st BASE, 2020)

Visualisasi elektroforesis *pre-treatment* sebelum proses elektroforesis di atas menunjukkan sampel DNV 3 dan DNV 5 memberikan hasil *smear*. Oleh karena itu, *lane* yang tidak memiliki pita tebal tidak dianjurkan untuk menuju tahap *sequencing*. Sementara sampel CNV 1, CNV 2, CNV 4, DNV 6, DV 7, dan DV 8 dapat dilanjutkan ke tahap *sequencing* (hasil *sequencing* terdapat pada lampiran).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

4.7 Analisis dan Identifikasi

Data yang diperoleh dari *sequencing* kemudian dicocokan dengan sekuens-sekuens yang tersimpan di GenBank. Tiap susunan basa nukleotida yang berhasil dianalisis oleh BLAST mempunyai ukuran panjang *basepair* dan urutan basa nukleotida berbeda (pada lampiran). Perbedaan tersebut mengisyaratkan adanya perbedaan spesies pula. Dalam Alqur'an Surat Al Furqan ayat 2 telah dijelaskan bahwa :

الَّذِيْ لَهٗ مُلْكُ السَّمٰوٰتِ وَا لْاَ رْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَّلَمْ يَكُنْ لَّهٗ شَرِيْكٌ فِى الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَّرَهٗ تَقْدِيْرًا۝

Artinya : "yang memiliki kerajaan langit dan bumi, tidak mempunyai anak, tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan(Nya), dan Dia menciptakan segala sesuatu, lalu menetapkan ukuran-ukurannya dengan tepat."

Menurut Tafsir Ibnu Katsir, ayat tersebut menyiratkan sebuah makna bahwa Allah SWT berkuasa atas segala yang ada di langit dan bumi. Allah SWT berhak menciptakan segala hal di bawah ketetapanNya dengan ukuran, aturan, dan tatanan yang serapi-rapinya. Informasi terkait urutan sekuens hasil *sequencing* juga tak luput dari kehendak Allah untuk menentukan deret basa nukleotida yang tepat dan berbeda-beda bagi tiap spesies, sehingga keragaman spesies dapat tercipta di bumi.

Melalui BLAST, informasi terkait perbandingan sekuens berhasil mengidentifikasi spesies pada tabel 4.4 berikut :

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Tabel 4.4 Hasil Identifikasi Bakteri Gram Negatif

No.	Kode Isolat	Asal Isolat	Spesies Bakteri
1	CNV 1	Kucing dan anjing tidak divaksin	*Klebsiella pneumoniae*
2	CNV 2	Kucing tidak divaksin	*Enterobacter hormaechei*
3	DNV 4	Anjing tidak divaksin	*Serratia marcescens*
4	DNV 6	Anjing tidak divaksin	*Providencia rettgeri*
5	DV 7	Anjing divaksin	*Stenotrophomonas maltophilia*
6	CV 8	Kucing divaksin	*Serratia marcescens*

Sumber : (Dokumentasi Pribadi, 2020)

Pada sampel air liur kucing tanpa vaksinasi rutin mengandung bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Enterobacter hormaechei*. Di sisi lain, temuan bakteri pada air liur anjing yang tidak divaksin adalah *Serratia marcescens*, *Providencia rettgeri*, *K. pneumoniae*, dan dua isolat bakteri tidak diketahui (DNV 3 dan DNV 5) karena tidak melalui tahap *sequencing*. Sementara pada air liur anjing peliharaan yang divaksin menunjukkan adanya bakteri *Stenotrophomonas maltophilia*. Bakteri *Serratia marcescens* juga dapat dideteksi dalam air liur kucing yang telah divaksinasi, meskipun bentuk koloni yang terlihat berbeda dari koloni pada air liur anjing tanpa vaksinasi . Spesies bakteri tersebut akan diterangkan sesuai pemaparan di bawah ini :

a. *Klebsiella pneumoniae*

Hasil sekuens yang diperoleh sampel CNV 1 yang berasal dari air liur anjing dan kucing peliharaan tidak divaksin membuktikan adanya kemiripan basa nukleotida dengan spesies *Klebsiella pneumoniae* (*Accession Number* : KM275682.1) dengan cakupan *query cover* serjumlah 99%. Sesuai Drancourt *et al.* (2000) bahwa *query cover* ≥99% mengindikasikan sekuens memiliki kemiripan hingga tingkat spesies. Oleh sebab itu, sekuens pertama berhasil mengidentifikasi

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

adanya *Klebsiella pneumoniae* dalam sampel air liur kucing dan anjing peliharaan tak divaksin.

Adapun klasifikasi dari bakteri genus *Klebsiella pneumoniae* yaitu :

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

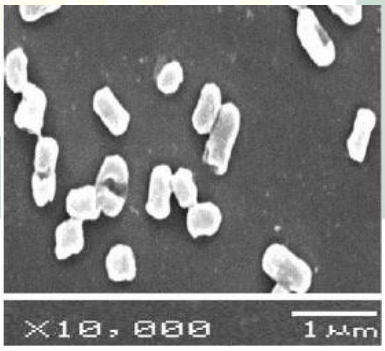
Class : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Klebsiella*

Species : *Klebsiella pneumoniae* (Trevisan, 1887)



Gambar 4.5 *Klebsiella pneumoniae*
Sumber : (Rajeshwari *et al.*, 2009)

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri monobasilus non motil yang melakukan respirasi anaerob fakultatif, jika ditinjau dari pertumbuhan pada media NB (Dwidjoseputro, 1990). Menurut *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, morfologi sel bakteri *Klebsiella* dilindungi oleh kapsula yang berfungsi untuk menghasilkan lendir,

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

sehingga memberikan kenampakan makroskopik koloni yang lengket dan berlendir. Bakteri ini juga tumbuh sangat baik pada media MCA dan mengindikasikan kemampuan memfermentasikan laktosa, dilihat dari koloni yang tetap berwarna merah muda. Koloni yang terbentuk oleh *K. pneumoniae* berukuran besar mukoid dengan elevasi mencembung (Kambuno dan Fanggidae, 2017)

Persebaran *Klebsiella pneumoniae* dapat ditemukan di berbagai tempat, seperti udara, tanah, air, lingkungan rumah sakit, limbah pembuangan, makanan atau minuman dingin, makanan tinggi kadar gula, bahkan tumbuh-tumbuhan (Garrity *et al.*, 2004). Hal tersebut didukung oleh Kambuno dan Fanggidae (2017) yang menemukan kontaminasi *Klebsiella* di ruang NICU dan Ibrahim *et al.* (2019) yang membuktikan *K. pneumoniae* terdapat pada tumbuhan seledri, luka bakar, dan urin.

Infeksi yang ditimbulkan *Klebsiella pneumoniae* cukup berbahaya. Umumnya, *K. pneumoniae* menyerang sistem respirasi manusia, namun *K. pneumoniae* pada hewan peliharaan cenderung menginfeksi saluran pencernaan maupun sistem ekskresi yang mengganggu kerja ginjal. Gejala muntah dan diare dapat disinyalir sebagai diagnosis hewan peliharaan menderita infeksi *K. pneumoniae*. Roberts *et al.* (2000) melaporkan *K. pneumoniae* berada dalam dinding usus, laring, faring, ginjal, paru-paru, dan limpa. Sementara Kuan *et al.* (2016) menyampaikan *K. pneumoniae* terdeteksi sebagai salah satu

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

isolat paling banyak pada urin anjing dan kucing yang mengalami infeksi saluran kencing. Temuan pada kedua hewan peliharaan tersebut membuktikan bahwa *K. pneumoniae* mayoritas dijumpai bukan sebagai flora khas oral kucing dan anjing.

Kontaminasi *K. pneumoniae* hingga sampai ke rongga mulut disebabkan adanya kemungkinan kontak langsung ataupun tidak langsung. Kebiasaan kucing yang suka membersihkan tubuh dan anjing yang kerap menjilat segala hal menjadi alasan terjadinya kontak langsung jalur *K. pneumoniae* terkadung dalam rongga mulut (Fraser, 2012; Zilocchi *et al.*, 2016). Lingkungan asal hewan juga berpengaruh terhadap mikroba bawaan yang terkandung dalam rongga mulut, mengingat kedua hewan peliharaan tersebut diperoleh dengan cara adopsi (tabel 4.1). Di sisi lain, kontak sekunder dapat disebabkan melalui *airborne* atau *foodborne* (U.S. Department of Health dan Human Service, 2013).

b. *Enterobacter hormaechei*

Berdasarkan urutan basa nitrogen sampel CNV 2 yang berasal dari kucing tanpa vaksinasi, spesies bakteri yang berhasil diidentifikasi menggunakan BLAST adalah *Enterobacter hormaechei* (*Accession Number* : MH396762.1). *Query cover* yang bernilai 99% menandakan tingkat penyejajaran sekuens memiliki kesamaan hingga taksa spesies (Drancourt *et al.*, 2000). Bakteri tersebut mempunyai klasifikasi sebagai berikut :

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

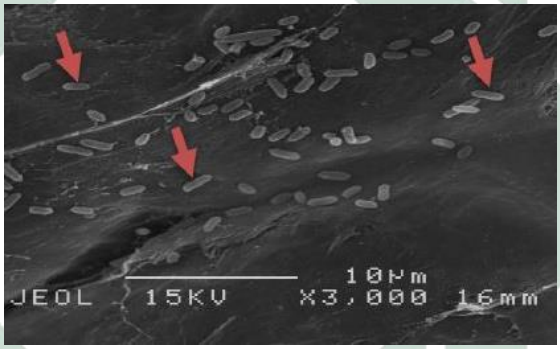
Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Enterobacter*

Species : *Enterobacter hormaechei*

(O'Hara *et al.*, 1989)



Gambar 4.6 *Enterobacter hormaechei*
Sumber : (Roslan *et al.*, 2020)

Enterobacter hormaechei termasuk golongan bakteri basil yang motil. Respirasi bakteri ini berlangsung anaerob fakultatif, mengingat pola pertumbuhan koloninya yang tersebar pada media NB. *E. hormaechei* merupakan spesies baru hasil observasi O'Hara *et al.* (1989) yang sebelumnya masih tergabung dalam spesies *E. cloacae* complex. Oleh sebab itu, kedua spesies tersebut memiliki morfologi koloni hampir sama. Koloni yang terbentuk pada media MCA berwana merah muda cerah, berbentuk ireguler, tepian utuh, dan elevasi melengkung (Cosmas *et al.*, 2016).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Umumnya, lingkungan hidup *Enterobacter hormaechei* berada di area rumah sakit yang berasal dari infeksi nosokomial. Bakteri ini ditemukan pada spesimen dahak, darah, dan urin penderita gangguan pernapasan atau saluran kemih (O'Hara *et al.*, 1989). Persebaran *E. hormaechei* meluas melalui transmisi *airborne* akibat terjadinya kontak dari manusia ke manusia yang kemudian dapat berlanjut ke hewan peliharaan (Beggs, 2003). Jalur tersebut tidak menutup kemungkinan, mengingat hewan peliharaan memiliki kontak dengan orang lain selain pemilik (tabel 4.1).

Laporan spesifik infeksi *Enterobacter hormaechei* masih sangat sedikit. Salah satu riset Roberts *et al.* (2020) berhasil mengidentifikasi *E. hormaechei* pada pasien luka bakar beberapa hari setelah dirawat dan mengalami infeksi. Deteksi *E. hormaechei* umumnya lebih sering digabungkan dengan spesies *Enterobacter* lain yang termasuk dalam *E. cloacae* complex. Kelompok tersebut biasa menjadi penyebab infeksi sekunder yang disebabkan bakteri patogen berbeda (Forbes *et al*., 2007). Abid dan Al-Amaar (2015) juga menginformasikan bahwa kelompok *E. cloacae* complex mengakibatkan infeksi pada mata, kulit, saluran kencing, luka bekas operasi, dan bakterimia.

c. *Escherichia coli*

Isolat DNV 3 pada media MCA menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri berwarna kemerahan dengan bentuk bulat, tepi utuh menjalar, dan elevasi melengkung (Public Health England, 2013).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Koloni yang terbentuk tidak memberikan perubahan warna signifikan pada media, sehingga tergolong fermentor laktosa (Barcella *et al.*, 2016). Bakteri tersebut juga mempunyai pola pertumbuhan koloni yang menyebar pada media NB, menandakan kemampuan respirasinya berlangsung anaerob fakultatif (Dwidjoseputro, 1990). Berdasarkan karakteristik tersebut, isolat 3 memiliki kesamaan dengan *Escherichia coli* (Ibrahim *et al.*, 2019).

Adapun klasifikasi dari bakteri *Escherichia coli* yakni :

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

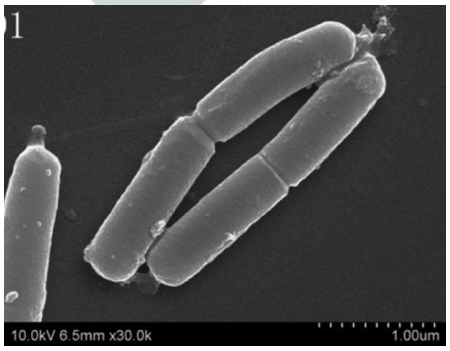
Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Species : *Escherichia coli*

(Castellani dan Chalmers, 1919)



Gambar 4.7 *Escherichia coli*
Sumber : (Xue *et al.*, 2016)

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Menurut *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, bakteri *Escherichia coli* termasuk bakteri basil motil yang memiliki flagel. Hal ini memungkinkan terjadinya motilitas yang mengakibatkan koloni terlihat menjalar. Blount (2015) menjelaskan fenomena tersebut berkaitan dengan kemampuan *swarming*. Studi tentang kemampuan *swarming E. coli* terhadap media masih terus dikaji untuk mengemukakan tujuan dari pertumbuhan tersebut. Namun, Zhang et al. (2010) menyatakan kemampuan *swarming* berhubungan dengan infeksi oportunistik *E. coli*.

Escherichia coli dikenal sebagai flora normal pada manusia dan hewan. Akan tetapi *E. coli* tak jarang menjadi penyebab gangguan pada pencernaan atau saluran kemih. Seiring berjalannya waktu, muncul beberapa strain yang menunjukkan resistensi terhadap antimikroba dan bersifat virulen (Bourne *et al.*, 2019). Thompson *et al.* (2011) melaporkan strain ExPEC (*Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli*) dapat menyebabkan infeksi saluran kemih pada anjing. Sementara Yousif et al. (2016) menyampaikan strain EHEC (*Enterohemorrhagic Escherichia coli*) menjadi penyebab diare dan demam pada anjing.

Penyebararan *Escherichia coli* dapat terjadi secara silang antara pemilik dan hewan peliharaan baik secara langsung maupun tak langsung. Chung *et al.* (2017) membuktikan distribusi silang tersebut berdasarkan analisis genetik dan kesamaan resistensi antimikroba.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

d. *Serratia marcescens*

Urutan basa nitrogen sekuens DNV 4 dan CV 8 yang diperoleh menunjukkan adanya kecocokan dengan spesies *Serratia marcescens* pada kumpulan data GenBank. Cakupan *query cover* berjumlah 99% mengindikasikan kecocokan sekuens hingga spesies (Drancourt *et al.*, 2000). Taksonomi dari *Serratia marcescens* yaitu :

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Serratia*

Species : *Serratia marcescens*

(Bizio, 1823)

Pada penelitian ini, *Serratia marcescens* diperoleh dari dua isolat yang menunjukkan perbedaan bentuk dan ukuran koloni. Isolat DNV4 memiliki kemiripan dengan *Serratia marcescens* strain DAP30 (*Accession Number* : EU302855.1), sedangkan isolat CV8 cocok dengan *Serratia marcescens* strain PZ11 (*Accession Number* : MN519524.1). Kedua sekuens beserta sekuens pembanding kemudian disejajarkan dengan *software* MEGA untuk mengetahui titik perbedaan basa nukleotida.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

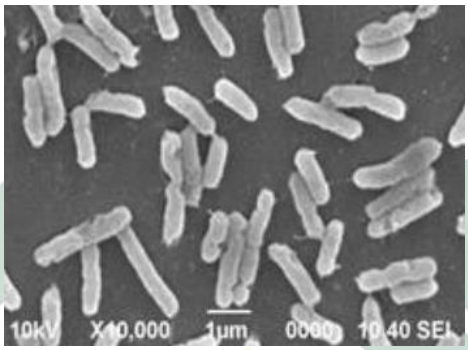
Analisis *alignment* menggunakan Clustal W menunjukkan adanya perbedaan urutan basa pada *site* 54, 424, 434, 976, 979, 980, dan 987 (pada lampiran). *Site* 54 dan 424 menunjukkan mutasi subtitusi tipe transisi, dimana basa nukleotida tergantikan dengan jenis molekul basa serupa (Habibi dan Pezeshki, 2013). *Site* 54 terdapat perbedaan urutan basa pirimidin timin dengan basa pirimidin lain (sitosin), sedangkan *site* 424 memperlihatkan perbedaan penyejajaran basa purin guanin yang berlawanan dengan adenin. Sementara *site* 987 juga mengalami mutasi subtitusi, namun bertipe transversi. Hal ini ditunjukkan pada perbedaan basa pirimidin (timin) yang disejajarkan dengan basa purin (guanin).

Pada *site* 434, 976, 979, dan 980 menunjukkan mutasi yang sama. Mutasi subtitusi tipe transisi terjadi secara acak pada *site* 434, 976, 979, dan 980. Mutasi tersebut menyebabkan tingkat *query cover* bagi tiap sekuens tidak mencapai 100%. Oleh sebab itu perbandingan sekuens untuk identifikasi sampai tingkat spesies diberikan toleransi sebesar 1% (Drancourt *et al.*, 2000).

Laporan Mende *et al*. (2019) juga berhasil mengidentifikasi satu spesies bakteri yang sama dari dua koloni berbeda. Setelah dilakukan identifikasi molekuler, biakan tersebut menunjukkan kesamaan spesies dengan strain berbeda. Proctor *et al.* (2006) mengatakan bahwa perbedaan pertumbuhan koloni disebut SCV (*small colony variant*). SCV memiliki kriteria koloni berukuran sepersepuluh lebih kecil dari tipe asli. Sementara Čepl *et al.* (2016) menjelaskan, pada dasarnya

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

pertumbuhan *S. marcescens* bermula dari sebuah titik yang menjadi pusat lingkaran interestial koloni. Koloni berukuran titik tersebut kemudian dapat berkembang seiring pergantian hari dan tumbuh perlahan hingga seukuran tipe normal (*wild type*).



Gambar 4.8 *Serratia marcescens*
Sumber : (Abel *et al.*, 2012)

Serratia marcescens adalah bakteri basil dengan ujung membulat yang bersifat motil. Bakteri ini digolongkan anaerob fakultatif karena koloninya menyebar dalam media cair NB (Dwidjoseputro, 1990). *S. marcescens* tidak memperlihatkan kemampuan sebagai fermentor laktosa ditinjau dari perubahan warna kekuningan media MCA. Umumnya, koloni *S. marcescens* berwarna putih pucat (*non-pigmented*), berukuran besar dengan tepi utuh, dan elevasi mencembung (Roy *et al.*, 2014).

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology membagi *Serratia marcescens* menjadi kelompok berpigmen yang tersebar secara alami di lingkungan sekitar dan kelompok tidak berpigmen biasa ditemukan di rumah sakit. Fox *et al.* (1981) menyatakan bakteri tersebut tidak berbahaya pada manusia, namun pada akhirnya dikelompokkan sebagai

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

bakteri patogen oportunistik. Transmisi infeksi nosokomial *S. marcescens* ditularkan antara pasien dan ahli medis melalui kateter atau jarum, baik di rumah sakit umum maupun rumah sakit hewan.

Informasi terkait kasus infeksi *Serratia marcescens* cukup beragam. Perez *et al.* (2011) menemukan *S. marcescens* yang menyebabkan infeksi endokarditis pada anjing, sedangkan Guyonnet *et al.* (2019) melaporkan *S. marcescens* bertanggung jawab atas peradangan pada mata kucing. Kasus infeksi *S. marcescens* yang disebabkan hewan peliharaan juga terjadi pada seorang penderita neutropenia. Cakaran anjing peliharaan tersebut memberikan infeksi selulitis pada kulit luar sang pemilik (Pithadia *et al*., 2019).

Berdasarkan Plavec *et al.* (2008), *Serratia marcescens* merupakan bakteri yang biasa dijumpai pada rongga mulut manusia sementara. Nirwana (2018) juga menyebutkan bahwa *Serratia marcescens* ditemukan pada rongga mulut anjing. Sementara kontaminasi pada mulut kucing yang divaksinasi dapat disebabkan kontak sang pemilik ataupun anjing peliharaan yang hidup dalam satu rumah (tabel 4.1). Di sisi lain, Perez *et al.* (2011) menyampaikan *S. marcescens* mudah menyebar di lingkungan sekitar, sehingga dapat dikatakan bahwa kontaminasi bakteri ini melalui jalur *airborne*.

e. *Proteus* sp.

Pada media MCA, isolat DNV 5 menunjukkan perubahan warna media yang memudar, menandakan isolat 5 tidak dapat

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

mefermentasikan laktosa (Darna *et al.*, 2018). Koloni dari isolat memiliki ukuran besar, bentuk bulat dengan pinggiran yang menjalar, margin utuh, dan elevasi mencembung. Secara umum, koloni tersebut merujuk pada *Proteus* sp. dengan karakteristik serupa (Peristiwati *et al*., 2018). Sementara biakan pada NB tumbuh menyebar dalam media cair, sehingga tergolong bakteri anaerob fakultatif (Dwidjoseputro, 1990). Adapun taksonomi *Proteus* sp. yakni :

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Proteus*

Species : *Proteus* sp.

(Hauser, 1885)

Gambar 4.9 *Proteus* sp.
Sumber : (Kamel dan Jarjes, 2016)

Proteus mempunyai koloni yang berkerumun dan memungkinkan terjadinya motilitas. Hal tersebut dikarenakan sel *swarm* berdiferensiasi

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

pada media agar dan membuat koloni tumbuh menjalar. Nakahara *et al.* (1996) menjelaskan bahwa fenomena *swarming* berlangsung saat koloni berada di tempat yang kaya nutrisi. Namun, konposisi media MCA yang mengandung garam empedu mampu menghambat gerakan *swarming* bakteri *Proteus* (Wanger *et al.*, 2017).

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology membagi *Proteus* menjadi empat spesies. Spesies pertama, *Proteus myxofaciens* berhasil diisolasi dari larva ngengat yang tidak ada hubungan patogenisitas pada manusia, sedangkan tiga spesies lain berhubungan dengan infeksi saluran kemih dan nosokomial. Meski demikian, Mohammed *et al*. (2016) menambahkan bahwa *Proteus mirabilis* dan *Proteus penneri* juga dijumpai pada darah atau luka serta resisten terhadap antibiotik tertentu. Laporan Bloch *et al.* (2011) tentang *Proteus vulgaris* dapat dideteksi pula pada pasien abses otak akibat bakterimia.

Pada dasarnya *Proteus* merupakan flora khas pada anjing, terutama *Proteus mirabilis* (Taufikurrahmi *et al.*, 2018). Akan tetapi, bakteri tersebut tetap bisa menginfeksi hewan itu sendiri. Petrov *et al.* (2013) menemukan kasus otitis eksterna yang disebabkan *P. mirabilis* walaupun bukan sebagai agen tunggal. Papini *et al.*, (2006) juga mengidentifikasi *P. mirabilis* sebagai salah satu bakteri penyebab infeksi saluran kemih pada anjing.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

f. *Providencia rettgeri*

Sekuens yang diperoleh dari sampel DNV 6 mempunyai kecocokan 99% dengan *Providencia rettgeri* (*Accession Number* : MW090891.1). Persentase *query cover* sebesar ≥99% menandakan kesamaan sekuens sampai mencakup taksa spesies (Drancourt *et al.*, 2000). Adapun sistem klasifikasi bakteri *Providencia rettgeri* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

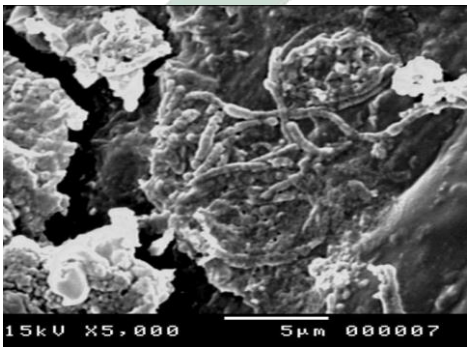
Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Providencia*

Species : *Providencia rettgeri*

(Brenner *et al*., 1978)



Gambar 4.10 *Providencia rettgeri*
Sumber : (Abd El-Baky, 2012)

Providencia rettgeri merupakan salah satu bakteri basil motil yang berada dalam famili Enterobacteriaceae. Bakteri ini berespirasi

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

dengan atau tanpa oksigen, sehingga tergolong anaerob fakultatif. Hal tersebut dapat dilihat melalui pertumbuhan koloni yang menyebar pada media NB (Dwidjoseputro, 1990). Sementara Zhang *et al.* (2013) menyebutkan koloni *P. rettgeri* yang tumbuh pada media agar memiliki warna putih, elevasi mencembung, bentuk bulat dengan tepian berbelah karena memiliki motilitas yang mengerumun (*swarming*).

Chart (2012) menerangkan *Providencia rettgeri* sebelumnya diketahui sebagai *Proteus rettgeri*. Perubahan nama dan taksonomi bakteri ini berlandaskan kemampuan memproduksi urease. Dalam *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, temuan *P. rettgeri* berhubungan dengan infeksi nosokomial. Selain itu, *P. rettgeri* sering menjadi penyebab sekunder infeksi pada luka (Washington *et al*., 2015). Tshisevhe *et al.* (2017) menambahkan, *P. rettgeri* resisten terhadap antibiotik tertentu, seperti carbapenem.

Bakteri *Providencia* umumnya menginfeksi manusia dari jalur *foodborne* (Shah *et al*., 2015). Jika menilik tabel 4.1 yang menunjukkan bahwa pemilik membuat pakan hewan sendiri sesuai apa yang dikonsumsi, maka persebaran *Providencia* dari jalur makanan memiliki kemungkinan besar. Korelasi tentang cemaran bakteri sampai pada mulut anjing dapat disebabkan jalur *foodborne* pula. Ketika makanan manusia yang mengandung *Providencia* dikonsumsi hewan peliharaan, kontaminasi tersebut berpotensi menyebar pada anjing peliharaan. Pernyataan ini didukung oleh Papadogiannakis *et al.* (2007) yang

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

menyinggung enteropatogenisitas di Jepang disebabkan bakteri *Providencia*.

g. *Stenotrophomonas maltophilia*

Menurut kecocokan data sekuens di GenBank, hasil sekuensing isolat DV 7 menunjukkan kemiripan dengan sekuens *Stenotrophomonas maltophilia* (*Accession Number* : KT970986.1) karena cakupan *query cover* mencapai 99%. Akurasi kemiripan tersebut dapat dipastikan hingga tingkat spesies (Drancourt *et al.*, 2000). Taksonomi dari *Stenotrophomonas maltophilia* yakni :

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

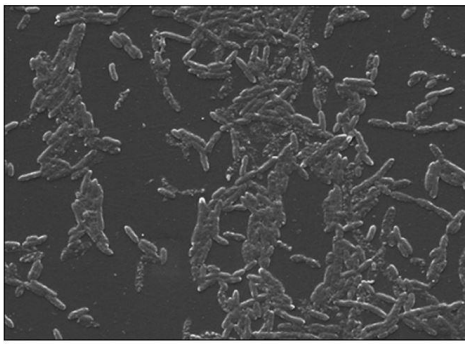
Ordo : Xanthomonadales

Famili : Xanthomonadaceae

Genus : *Stenotrophomonas*

Species : *Stenotrophomonas maltophilia*

(Palleroni dan Bradbury, 1993)



Gambar 4.11 *Stenotrophomonas maltophilia*
Sumber : (Brooke, 2012)

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Stenotrophomonas maltophilia adalah bakteri berbentuk batang lurus yang motil dengan flagel. Pada kultur MCA, koloni bakteri tersebut tidak memperlihatkan adanya perubahan warna media yang mengindikasikan tidak memfermentasikan laktosa. Adapun koloni yang terbentuk berukuran kecil, bentuk bulat, dan elevasi melengkung (Mahdi *et al.*, 2015). Sementara pada media NB, koloni tumbuh di permukaan media. Oleh sebab itu *S. maltophilia* dapat dikatakan sebagai bakteri aerob (Dwidjoseputro, 1990).

Dalam *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* menerangkan bahwa *Stenotrophomonas maltophilia* memiliki kemampuan untuk mereduksi nitrat dan nitrit sehingga mudah dijumpai di alam. Mahdi *et al.* (2015) mampu mengisolasi bakteri ini pada lingkungan lembab seperti tanah atau rhizoid tumbuhan. Namun dalam beberapa waktu terakhir, *S. maltophilia* dikenal sebagai salah satu patogen opertunistik yang berperan dalam infeksi nosokomial (WHO, 2003). Peluang kontaminasi *S. maltophilia* pada rongga mulut anjing dapat disebabkan kontak saat menjalani penyembuhan pasca operasi (tabel 4.1). WHO (2009) menjelaskan *Stenotrophomonas* merupakan salah satu bakteri yang sering dijumpai dalam air keran rumah sakit.

Pada manusia, *Stenotrophomonas maltophilia* menyebabkan endokarditis, sepsis, meningitis, peritonis, dan infeksi luka (Sattler *et al*., 2000). Sementara pada hewan, Petridou *et al.* (2010) melaporkan *S. maltophilia* menjadi penyebab hepatitis granulomatosa pada hati

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

kerbau. Kralova-Kovarikova *et al.* (2012) menambahkan, *S. maltophilia* juga ditemukan setelah pemeriksaan berulang pada anjing yang mengalami infeksi saluran kemih.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB V

PENUTUP

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

a. Bakteri yang ditemukan pada air liur anjing peliharaan tidak divaksin berjumlah lima koloni dan pada kucing peliharaan tidak divaksin berjumlah dua koloni, sedangkan anjing dan kucing peliharaan dengan vaksinasi masing-masing ditemukan satu koloni bakteri.

b. Spesies bakteri yang berhasil ditemukan dalam air liur anjing peliharaan tidak divaksin adalah *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Providencia rettgeri*, *Proteus* sp., dan *Klebsiella pneumoniae*. Untuk bakteri dari air liur kucing peliharaan tidak divaksin dapat dijumpai spesies *Klebsiella pneumoniae* dan *Enterobacter hormaechei*. Di sisi lain, bakteri yang ditemukan pada air liur anjing yang divaksin adalah spesies *Stenotrophomonas maltophilia* dan pada kucing peliharaan yang divaksinasi terdapat *Serratia marcescens*.

5.2 Saran

Perlu dilakukan riset lebih lanjut dengan batasan-batasan penelitian tertentu agar mendapatkan hasil lebih valid. Lingkungan tinggal dan kondisi sesama hewan peliharaan juga perlu dilacak untuk mengetahui jalur

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

persebaran bakteri. Selain itu, perlakuan uji biokimia dan resistensi antibiotik juga diperlukan sebagai penegasan kemampuan setiap bakteri, sebab identifikasi molekuler berdasarkan penanda gen 16S rRNA tidak mampu mendeteksi tingkat keragaman fenotip tiap spesies. Selain itu, untuk pengemasan sampel proses sekuensing disarankan memberikan *ice gel* agar menjaga kondisi sampel, sehingga tidak terdegradasi.

Kepada para pemilik sebaiknya melakukan vaksinasi demi menghindarkan hewan peliharaan terhadap mikroba berbahaya. Selain itu, kebersihan tubuh dan mulut hewan peliharaan juga perlu ditingkatkan. Demi mengurangi prevalensi penyebaran bakteri, pemilik dihimbau untuk menjaga kontak dengan hewan peliharaan masing-masing dan rajin menjaga kebersihan tangan sebelum melakukan aktivitas lain.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

DAFTAR PUSTAKA

Abid, I. N. dan M. R. Al-Amaar. 2015. Bacteriological Study of *Enterobacter* spp. that Isolated from Different Clinical Specimens. *Magazin of Al-Kufa University for Biology* 7(1): 1–17.

Al-Mubarakfury, S. S. 2015. *Tafsir Ibnu Katsir*. Sygma Creative Media Corp, Bandung.

Alkhfaji, A. dan Z. A. Alrazaq. 2018. Bee Collected Pollen Load (BCPL) as Alternative Culture Media for Bacterial and Yeast Growth. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 10(4): 830–835.

Bailie, W. E., E. C. Stowe, dan A. M. Schmitt. 1978. Aerobic Bacterial Flora of Oral and Nasal Fluids of Canines with Reference to Bacteria Associated with Bites. *Journal of Clinical Microbiology* 7: 223–231.

Barcella, L., A. P. Barbaro, dan S. B. Rogolino. 2016. Colonial Morphology of *Escherichia coli*: Impact of Detection in Clinical Specimens. *Microbiologia Medica* 31(2) : 4–9.

Beggs, C. B. 2003. The Airborne Transmission of Infection in Hospital Buildings: Fact or Fiction?. *Indoor and Built Environment* 12(1–2): 9–18.

Bizio, 1823. *ITIS Report : Serratia marcescens*. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=958620#null. Diakses pada Selasa, 12 Desember 2020 pukul 14.42 WIB.

Blanche, P., E. Bloch, dan D. Sicard. 1998. *Capnocytophaga canimorsus* in the Oral Flora of Dogs and Cats. *Journal of Infection* 36: 134.

Bloch, J., X. Lemaire, L. Legout, D. Ferriby, Y. Yazdanpanah, dan E. Senneville. 2011. Brain Abscesses During *Proteus vulgaris* Bacteremia. *Neurological Sciences* 32(4): 661–663.

Blomstergren, A. 2003. *Strategies for de Novo DNA Sequencing*. Royal Institute of Technology, Stockholm.

Blount, Z. D. 2015. The Unexhausted Potential of *E. coli*. *eLife* 4: 1–12.

Bourne, J. A., W. L. Chong, dan D. M. Gordon. 2019. Genetic Structure, Antimicrobial Resistance, and Frequency of Human Associated *Escherichia coli* Sequence Types Among Faecal Isolates from Healthy Dogs and Cats Living in Canberra, Australia. *PLoS ONE* 14(3): 1–13.

Brenner *et al*. 1978. *ITIS Report : Providencia rettgeri*. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=965108#null. Diakses pada Selasa, 12 Desember 2020 pukul 13.31 WIB.

Budiana, N. S. 2008a. *Anjing*. Penebar Swadaya, Jakarta.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Budiana, N. S. 2008b. *Anjing Trah Kecil*. Penebar Swadaya, Jakarta.

Castellani dan Chalmers. 1919. *ITIS Report : Escherichia coli*. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=285#null. Diakses pada Selasa, 12 Desember 2020 pukul 13.46 WIB.

Čepl, J. , A. Blahůšková, Z. Neubauer, dan A. Markoš. 2016. Variations and Heredity in Bacterial Colonies. *Communicative & Integrative Biology* 9(6): e1261228-1 – e1261228-1l.

Chakravorty, S., S. Chakravorty, D. Helb, M. Burday, N. Connell, dan D. Alland. 2007. A Detailed Analysis of 16S Ribosomal RNA Gene Segments for the Diagnosis of Pathogenic Bacteria. *Journal of Microbiological Methods* 69(2): 330–339.

Chart, H. 2012. *Klebsiella, Enterobacter, Proteus and Other Enterobacteria: Pneumonia; Urinary Tract Infection; Opportunist Infection in Medical Microbiology 18th Edition*. Churchill Livingstone, Elsevier Ltd, London.

Chung, Y. S., Y. S. Chung, Y. K. Park, Y. H. Park, dan K. T. Park. 2017. Probable Secondary Transmission of Antimicrobial-Resistant *Escherichia coli* between People Living with and without Pets. *Journal of Veterinary Medical Science* 79(3): 486–491.

Corry, J. E. L., G. D. W. Curtis, dan R. M. Baird. 2003. *Handbook of Culture Media for Food Microbiology: Second Edition*. Elsevier, Amsterdam.

Cosmas, L. L., M. Atong, dan E. Poili. 2016. Preliminary Studies Towards Identification of Ginger Wilt Disease in Sabah, Malaysia. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science* 39(3): 373–380.

Darna, M. Turnip, dan Rahmawati. 2018. Identifikasi Bakteri Anggota Enterobacteriaceae pada Makanan Tradisional Sotong Pangkong. *Jurnal Labora Medika* 2(2): 6–12.

Desmarais, W. T., D. L. Bienvenue, K. P. Bzymek, R. C. Holz, G. A. Petsko, dan D. Ringe. 2002. The 1.20Å Resolution Crystal Structure of the Aminopeptidase from *Aeromonas proteolytica* Ccomplexed with Tris: A Tale of Buffer Inhibition. *Structure* 10(8): 1063–1072.

Drancourt, M., C. Bollet, A. Carloz, R. Martelin, J. P. Gayral, dan D. Raoult. 2000. 16S Ribosomal DNA Sequence Analysis of a Large Collection of Environmental and Clinical Unidentifiable Bacterial Isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 38(10): 2623–3630.

Driscoll, C. A., J. Clutton-Brock, A. C. Kitchener, dan S. J. O'Brien. 2009. The Taming of the Cat. *Scientific American* 300(6): 68–75.

Dwidjoseputro. 1990. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Penerbit Djambatan, Jakarta.

Engelkirk, P. G. dan J. Duben-Engelkirk. 2008. *Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Essentials of Diagnostic*. Lippincott Williams &

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Wilkins, Philadelphia.

Exner, M., S. Bhattacharya, B. Christiansen, J. Gebel, P. Goroncy-Bermes, P. Hartemann, P. Heeg, C. Ilschner, A. Kramer, E. Larson, W. Merkens, M. Mielke, P. Oltmanns, B. Ross, M. Rotter, R. M. Schmithausen, H. G Sonntag, dan M. Trautmann. 2017. Antibiotic Resistance: What is So Special About Multidrug-resistant Gram-negative Bacteria?. *GMS Hygiene and Infection Control* 12: 1–24.

Fischer, L. J., R. S. Weyant, E. H. White, dan F. D. Quinn. 1995. Intracellular Multiplication and Toxic Destruction of Cultured Macrophages by *Capnocytophaga canimorsus*. *Infection and Immunity* 63: 3484–3490.

Forbes, B. A., D. F. Sahm, dan A. S. Weissfeld. 2007. *Baily & Scotts Diagnostic Microbiology*. Elsevier, Amsterdam.

Fox, J. G., C. M. Beaucage, C. A. Folta, dan G. W. Thornton. 1981. Nosocomial Transmission of *Serratia marcescens* in a Veterinary Hospital Due to Contamination by Benzalkonium Chloride. *Journal of Clinical Microbiology* 14(2): 157–160.

Fraser, A. F. 2012. *Feline Behavior and Welfare*. CAB International, Wallingford.

Gaastra, W. dan L. J. A. Lipman. 2010. *Capnocytophaga canimorsus*. *Veterinary Microbiology* 140(3–4): 339–346.

García-Fruitós, E., N. González-Montalbán, M. Morell, A. Vera, R. M. Ferraz, A. Arís, S. Ventura, dan A. Villaverde. 2005. Aggregation as Bacterial Inclusion Bodies Does Not Imply Inactivation of Enzymes and Fluorescent Proteins. *Microbial Cell Factories* 4(27).

Garcia-Mazcorro, J. F., S. E. Dowd, J. Poulsen, J. M. Steiner, dan J. S. Suchodolski. 2012. Abundance and Short-Term Temporal Variability of Fecal Microbiota in Healthy Dogs. *Microbiology Open* 1(3): 340–347.

Garcia-Mazcorro, J. F. dan Y. Minamoto. 2013. Gastrointestinal Microorganisms in Cats and Dogs: A Brief Review. *Archivos de Medicina Veterinaria* 45(2): 111–124.

Garrity, G., D. J. Brenner, N. R Krieg, dan J. R. Staley. 2004. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume Two : The Proteobacteria, Part B :The Gammaproteobacteria*. Springer US, New York.

Guyonnet, A., M. Ménard, E. Mongellas, C. Lassaigne, H. J. Boulouis, S. Chahory. 2019. Supposed Endogenous Endophthalmitis Caused by *Serratia marcescens* in a Cat. *Open Veterinary Journal* 9(1): 13–17.

Handi, A. 2008. Tanah Steril dan Sabun Cair Tanah Steril sebagai Bahan Antimikroba terhadap Air Liur Anjing. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Handoyo, D. dan A. Rudiretna. 2000. Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polymerse

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Chain Reaction (PCR). *Unitas* 9(1): 17–29.

Hassan, R., A. Husin, S. Sulong, S. Yusoff, M. F. Johan, B. H. Yahaya, C. Y. Ang, S. Ghazali, dan S. K. Cheong. 2015. Practice Guideline : Guidelines for Nucleic Acid Detection and Analysis in Hematological Disorders. *Malaysian Journal of Pathology* 37(2): 165–173.

Hauser. 1885. *ITIS Report : Proteus*. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=249#null. Diakses pada Selasa, 12 Desember 2020 pukul 14.11 WIB.

Ibrahim, I. A. J., T. A. Kareem, Y. M. Azeez, dan H. K. Falhi. 2019. Phylogenetic Tree Analysis Based on the 16S Sequence Alignment for *Klebsiella* spp. Isolated from Different Sources. *Iraqi Journal of Science* 60(12): 2618–2628.

Isnaeni, W. 2006. *Fisiologi Hewan*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.

Kambuno, N. T. dan D. Fanggidae. 2017. Identifikasi Bakteri Gram Negatif Galur Extended Spectrum Beta Lactamase Pada Ruang NICU RSUD Prof. DR. W. Z. Johannes Kupang. *Jurnal Info Kesehatan* 15(2): 333–345.

Kanipes, M. I. dan P. Guerry. 2010. Role of Microbial Glycosylation in Host Cell Invasion. In *Microbial Glycobiology*. Academic Press, Cambridge, Massachusetts.

Kasuma, N. 2015. *Fisiologi dan Patologi Saliva*. Andalas University Press, Padang.

Kepel, B. dan Fatimawali. 2015. Penentuan Jenis Dengan Analisis Gen 16SrRNA dan Uji Daya Reduksi Bakteri Resisten Merkuri yang Diisolasi Dari Feses Pasien Dengan Tambalan Amalgam Merkuri di Puskesmas Bahu Manado. *Jurnal Kedokteran YARSI* 23(1): 45–55.

Khairiyah. 2016. Zoonosis dan Upaya Pencegahannya (Kasus Sumatera Utara). *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 30(3): 117–124.

Kralova-Kovarikova, S., R. Husnik, D. Honzak, P. Kohout, dan P. Fictum. 2012. *Stenotrophomonas maltophilia* Urinary Tract infections in Three Dogs: A Case Report. *Veterinarni Medicina* 57(7): 380–383.

Kuan, N. L., C. W. Chang, C. A. Lee, dan K. S. Yeh. 2016. Extended-Spectrum Beta-Lactamaseproducing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates from the Urine of Dogs and Cats Suspected of Urinary Tract Infection In a Veterinary Teaching Hospital. *Taiwan Veterinary Journal* 42(3): 143–148.

Kumar, B. R. 2012. DNA Representation. In *Munshi, Anjana: DNA Sequencing and Applications*. InTech, Rijeka.

Lambertini, E., R. L. Buchanan, C. Narrod, dan A. K. Pradhan. 2016. Transmission of Bacterial Zoonotic Pathogens between Pets and Humans:

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

The Role of Pet Food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 56(3): 364–418.

Lappin, M. R., J. Blondeau, D. Boothe, E. B. Breitschwerdt, L. Guardabassi, D. H. Lloyd, M. G. Papich, S. C. Rankin, J. E. Sykes, J. Turnidge, dan J. S. Weese. 2017. Antimicrobial use Guidelines for Treatment of Respiratory Tract Disease in Dogs and Cats: Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 31: 279–294.

Lestari, L. A., E. Harmayani, T. Utami, P. M. Sari, S. Nurviani. 2018. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Makanan di Bidang Gizi dan Kesehatan*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Li, X., Y. Wu, L. Zhang, Y. Cao, Y. Li, J. Li, L. Zhu, G. Wu. 2014. Comparison of Three Common DNA Concentration Measurement Methods. *Analytical Biochemistry* 451: 18–24.

Lienhard, A. dan S. Schäffer. 2019. Extracting the Invisible : Obtaining High Quality DNA is a Challenging Task in Small Arthropods. *PeerJ* 2019(4): 1–17.

Liu, D. 2011. *Molecular Detection of Human Bacterial Pathogens*. CRC Press, Boca Raton.

Loureiro, J., E. Rodriguez, J. Dolezel, dan C. Santos. 2006. Comparison of Four Nuclear Isolation Buffers for Plant DNA Flow Cytometry. *Annals of Botany* 98(3): 679–689.

Mahdi, O., B. Eklund, dan N. Fisher. 2015. *Stenotrophomonas maltophilia*: Laboratory Culture and Maintenance. *Current Protocols in Microbiology* 32: 1–9.

Marchandin, H. dan E. Jumas-Bilak. 2006. 16S rRNA Gene Sequencing : Interest and Limits for Identification and Characterization of Novel Taxa within the Family Acidaminococcaceae. In *McNamara, P. A. Trends In RNA Research*. Nova Science Publisher, New York.

Mende, P. S., J. Pelealu, dan B. Kolondam. 2019. Identifikasi Molekuler Bakteri dalam Feses Kucing (*Felis domestica*) yang Ditumbuhkan pada De Mann Rogosa Sharpe Agar (MRSA). *Pharmacon* 8(1): 73–78.

Mohammed, G. J., M. J. Kadhim, dan I. H. Hameed. 2016. *Proteus* Species: Characterization and Herbal Antibacterial: A Review. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 8(11): 1844–1854.

Muharni, H. Yohandini, dan M. Anggraini. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termo-lipolitik dengan Pendekatan Biologi Molekuler Berbasis Gen 16S rRNA. *Prosiding Semirata* 1(1): 95–104.

Nakahara, A., Y. Shimada, J. Wakita, M. Matsushita, dan T. Matsuyama. 1996. Morphological Diversity of the Colony Produced by Bacteria *Proteus mirabilis*. *Journal of the Physical Society of Japan* 65(8): 2700–2706.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Nedelman, M. 2018. *Man Loses Hands And Feet After Dog-Related Infection*. https://edition.cnn.com/2018/09/18/health/dog-saliva-infection-capnocytophaga/index.html. Diakses pada 20 September 2019 pukul 16.58 WIB.

Nirwana. 2018. Identifikasi Molekuler Bakteri pada Saliva Anjing *(Canis lupus)* Ras Herder Dewasa. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar.

Noel, A. C. and D. L. Hu. 2018. Cats Use Hollow Papillae to Wick Saliva into Fur. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115(49): 12377–12382.

NPCA. 2018. *Feral and Stray Cats : Monitoring and Control, a Preliminary Guideline Towards Good Practice*. National Pest Control Agencies, New Zealand.

Nurhayati, B. dan S. Darmawati. 2017. *Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medis : Biologi Sel dan Molekuler*. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan, Jakarta.

Nusantari, E. 2015. *Genetika : Belajar Genetika dengan Mudah & Komprehensif (Dilengkapi Data Hasil Riset tentang Kesulitan Memahami Konsep Genetika dan Riset dalam Pembelajaran Genetika)*. Deepublish, Yogyakarta.

O'Hara, C. M., A. G. Steigerwalt, B. C. Hill, J. J. Farmer, G. R. Fanning, dan D. J. Brenner. 1989. *Enterobacter hormaechei*, a New Species of the Family Enterobacteriaceae Formerly Known as Enteric Group 75. *Journal of Clinical Microbiology* 27(9): 2046–2049.

Olson, N. D. dan J. B. Morrow. 2012. DNA Extract Characterization Process for Microbial Detection Methods Development and Validation. *BMC Research Notes* 5(668): 1–14.

Oskouizadeh, K., T. Zahreaei-Salehi, dan S. Aledavood. 2010. Detection of *Bartonella henselae* in Domestic Cat's Saliva. *Iranian Journal of Microbiology* 2(2): 80–84.

Palleroni dan Bradbury. 1993. *ITIS Report : Stenotrophomonas maltophilia*. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=966389#null. Diakses pada Selasa, 12 Desember 2020 pukul 14.27 WIB.

Papadogiannakis, E., D. Perimeni, E. Velonakis, V. Kontos, dan A. Vatopoulos. 2007. *Providencia stuartii* Infection in a Dog with Severe Skin Ulceration and Cellulitis. *Journal of Small Animal Practice* 48(6): 343–345.

Papini, R., V. V. Ebani, D. Cerri, dan G. Guidi. 2006. Survey on Bacterial Isolates from Dogs with Urinary Tract Infections and Their In Vitro Sensitivity. *Revue de Medecine Veterinaire* 157(1): 35–41.

Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI Press, Jakarta.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Perez, C., Y. Fujii, M. Fauls, J. Hummel, dan E. Breitschwerdt. 2011. Fatal Aortic Endocarditis Associated with Ccommunity-acquired *Serratia marcescens* Infection in a Dog. *Journal of the American Animal Hospital Association* 47(2): 133–137.

Peristiwati, Y. S. Natamihardja, dan H. Herlini. 2018. Isolation and Identification of Cellulolytic Bacteria from Termites Gut (*Cryptotermes* sp.). *Journal of Physics: Conference Series* 1013(1).

Petridou, E., G. Filioussis, E. Karavanis, dan S. K. Kritas. 2010. *Stenotrophomonas maltophilia* as a Causal Agent of Pyogranulomatous Hepatitis in a Buffalo (*Bubalus bubalis*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 22(5): 772–774.

Petrov, V., G. Mihaylov, I. Tsachev, G. Zhelev, P. Marutsov, dan K. Koev. 2013. Otitis Externa in Dogs: Microbiology and Antimicrobial Susceptibility. *Revue de Medecine Veterinaire* 164(1): 18–22.

PISS KTB. 2015. *Tanya Jawab Islam*. PISS KTB, Yogyakarta.

Pithadia, D. J., E. N. Weathers, R. E. Colombo, dan S. L. Baer. 2019. Severe and Progressive Cellulitis Caused by Serratia marcescens Following a Dog Scratch. *Journal of Investigative Medicine High Impact Case Reports* 7(235).

Plavec, T., I. Zdovc, P. Juntes, T. Svara, S. Suhadolc Scholten, A. Nemec, A. Domanjko Petric, dan N. Tozon. 2008. Necrotizing Fasciitis Caused by *Serratia marcescens* After Tooth Extraction in a Doberman Pinscher: A Case Report. *Veterinarni Medicina* 53(11): 629–635.

Plotkin, S., W. Orenstein, dan P. Offit. 2008. *Vaccines 5th Edition*. Elsevier, Philadelphia.

Pradhap, M., Selvisabhanayakam, V. Mathivanan, V. Parthasarathy, J. V. Ananda Ayyappan, dan S. Sathees Kumar. 2011. Study on 16s rRNA Based PCR Method for Specific Detection of *Salmonella entrica typhi* from Gut of Infected Silkworm *Bombyx mori* (Linn.). *Journal of Scientific and Industrial Research* 70(11): 909–911.

Proctor, R. A., C. von Eiff, B. C. Kahl, K. Becker, P. McNamara, M. Herrmann, dan G. Peters. 2006. Small Colony Variants: A Pathogenic Form of Bacteria that Facilitates Persistent and Recurrent Infections. *Nature Reviews Microbiology* 4(4): 295–305.

Promega. 2019. *Technical Manual : Wizard® Genomic DNA Purification Kit*. https://www.promega.com/-/media/files/resources/protocols/product-information-sheets/g/gotaq-green-master-mix-protocol.pdf. Diakses pada 25 November 2019 pukul 1.18 WIB.

Public Health England. 2013. *UK Standards for Microbiology Investigations : Identification of Enterobacteriaceae*. Standards Unit, Public Health England, London.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Pudjiatmoho, B. Syahroni, C. Salam, D. Polrianto, D. Sholihah, E. R. Fitriastuti, I. N. Agustin, L. Desmayanti, M. Fauzi, Margaretha, dan H. Erika. 2014. *Indeks Obat Hewan Indonesia*. Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Hewan, Jakarta.

Reddy, S. M. 2001. *University Botany I: Algae, Fungi, Bryophyta, and Pteridophyta*. New Age International, New Delhi.

Rettner, R. 2019. *A Woman Needed Her Hands and Legs Amputated After Contracting Infection from Dog 'Kisses'*. https://www.livescience.com/66110-dog-kisses-infection-amputation.html. Diakses pada Senin, 9 September 2019 pukul 16.56 WIB.

Rinanda, T. 2011. Analisis Sekuensing 16S rRNA di Bidang Mikrobiologi. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala* 11(3): 172–177.

Roberts, D. E., H. M. McClain, D. S. Hansen, P. Currin, dan E. W. Howerth. 2000. An Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* Infection in Dogs with Severe Enteritis and Septicemia. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 12: 168–173.

Roberts, L. W., P. N. A. Harris, B. M. Forde, N. L. Ben Zakour, E. Catchpoole, M. Stanton-Cook, M. D. Phan, H. E. Sidjabat, H. Bergh, C. Heney, J. A. Gawthorne, J. Lipman, A. Allworth, K. G. Chan, T. M. Chong, W. F. Yin, M. A. Schembri, D. L. Paterson, dan S. A. Beatson. 2020. Integrating Multiple Genomic Technologies to Investigate an Outbreak of Carbapenemase-producing *Enterobacter hormaechei*. *Nature Communications* 11(1): 1–11.

Roth, J. A. 2011. Veterinary Vaccines and Their Importance to Animal Health and Public Health. *Procedia in Vaccinology* 5: 127–136.

Roy, P., N. H. Ahmed, and R. K. Grover. 2014. Non-pigmented Strain of *Serratia marcescens*: An Unusual Pathogen Causing Pulmonary Infection in a Patient with Malignancy. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 8(6): 5–6.

Ruiz-Fuentes, J. L., A. Díaz, A. E. Entenza, Y. Frión, O. Suárez, P. Torres, Y. de Armas, dan L. Acosta. 2015. Comparison of Four DNA Extraction Methods for the Detection of *Mycobacterium leprae* from Ziehl-Neelsen-stained Microscopic Slides. *International Journal of Mycobacteriology* 4(4): 284–289.

Sambrook, J., E. F. Fritsch, dan T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning Laboratory Manual 3rd Edition*. Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York.

Santoso, B. dan N. S. Budiana. 2015. *Anjing*. Agriflo, Jakarta.

Sattler, C. A., E. O. Mason, dan S. L. Kaplan. 2000. Nonrespiratory *Stenotrophomonas maltophilia* Infection at a Children's Hospital. *Clinical Infectious Diseases* 31(6): 1321–1330.

Shah, M. M., E. Odoyo, P. S. Larson, E. Apondi, C. Kathiiko, G. Miringu, M.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Nakashima, dan Y. Ichinose. 2015. First Report of a Foodborne *Providencia alcalifaciens* Outbreak in Kenya. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 93(3): 497–500.

Shahi, S. K., S. N. Freedman, dan A. K. Mangalam. 2017. Gut Microbiome in Multiple Sclerosis: The Players Involved and the Roles They Play. *Gut Microbes*: 1–9.

Siegel, C. S., F. O. Stevenson, dan E. A. Zimmer. 2017. Evaluation and Comparison of FTA Card and CTAB DNA Extraction Methods for Non-Agricultural Taxa. *Applications in Plant Sciences* 5(2): 1–7.

Siswanto. 2016. *Thermoregulasi*. Universitas Udayana, Denpasar.

Sousa, A. M., I. Machado, A. Nicolau, dan M. O. Pereira. 2013. Improvements on Colony Morphology Identification Towards Bacterial Profiling. *Journal of Microbiological Methods* 95(3): 327–335.

Stull, J. W., J. I. Kasten, M. D. Evason, R. G. Sherding, A. E. Hoet, J. O'Quin, M. J. Burkhard, dan J. S. Weese. 2016. Risk Reduction and Management Strategies to Prevent Transmission of Infectious Disease Among Dogs at Dog Shows, Sporting Events, and Other Canine Group Settings. *JAVMA* 249(6): 612–627.

Sukadiyanto. 2010. Stress dan Cara Menguranginya. *Jurnal Cakrawala Pendidikan* 1(1): 55–66.

Surzycki, S. 2000. *Basic Techniques in Molecular Biology*. Springer, Berlin.

Sutrisno, I. K., I. Arundina dan A. Sosiawan. 2013. Identifikasi Bite Marks dengan Ekstraksi DNA Metode Chelex. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)* 46(2): 107–112.

Sutrisno, M. dan H. Putranto. 2005. *Teori-Teori Kebudayaan*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.

Suwed, M. A. dan R. M. Napitupulu. 2011. *Panduan Lengkap Kucing*. Penebar Swadaya, Jakarta.

Talaro, K. P. 2007. *Foundations in Microbiology : Basic Principles*. Mc Graw Hill, New York.

Taufikurrahmi, A. Fitria, dan S. Z. Munawiroh. 2018. Adsorption Study of Clinical Bacteria onto Clay : Application of Clay in Islamic Cleansing. *Proceedings of International Conference on Technology and Social Science*: 1–5.

Taylor, L. H., S. M. Latham, dan M. E. J. Woolhouse. 2001. Risk Factors for Human Disease. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 356: 938–989.

Thompson, M. F., A. L. Litster, J. L. Platell, dan D. J. Trott. 2011. Canine Bacterial Urinary Tract Infections: New Developments in Old Pathogens. *Veterinary Journal* 190(1): 22–27.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Titrawani. 1996. Biodiversiti Kodok Genus Rana Ditinjau dari Morfologi, Kariotip, dan Pola Protein di Kodya Sawahlunto. In Pratiwi, N. *Mengenal Metode Elektroforesis*. *Oseana* 26(1): 25–31.

Trevisan. 1887. *ITIS Report : Klebsiella pneumoniae*. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=9751&print_version=PRT&source=to_print#null. Diakses pada Selasa, 12 Desember 2020 pukul 12.47 WIB.

Tshisevhe, V. S., M. R. Lekalakala, N. Tshuma, S. Janse Van Rensburg, dan N. Mbelle. 2017. Outbreak of Carbapenem-resistant *Providencia rettgeri* in a Tertiary Hospital. *South African Medical Journal* 107(1): 31–33.

U.S. Department of Health and Human Service. 2013. *Food Code, Center for Global Development*. National Technical Information Service, Alexandria, Virginia.

Untung, O. 2007. *Merawat dan Melatih Anjing*. Penebar Swadaya, Jakarta.

Wanger, A., V. Chavez, R. S. P. Huang, A. Wahed, J. K. Actor, dan A. Dasgupta. 2017. Media for the Clinical Microbiology Laboratory In Microbiology and Molecular Diagnosis in Pathology. *Microbiology and Molecular Diagnosis in Pathology*: 51–60.

Washington, M. A., J. Barnhill, dan J. M. Griffin. 2015. A Case of Wound Infection with *Providencia rettgeri* and Coincident Gout in a Patient from Guam. *Hawai'i Journal of Medicine and Public Health* 74(11): 2014–2016.

Weeks, B. S. dan I. E. Alcamo. 2008. *Microbes and Society : Second Edition*. Jones and Bartlett Publishers, Sudburry, Massachusette.

Weisburg, W. G., S. M. Barns, D. A. Pelletier, dan D. J. Lane. 1991. 16S Ribosomal DNA Amplification for Phylogenetic Study. *Journal of Bacteriology* 173(2): 697–703.

Westwell, A. J., K. Kerr, M. B. Spencer, dan D. N. Hutchinson. 1989. In Beernink, T. M. J., P. C. Wever, M. H. A. Hermans, dan M. G. T. Bartholomeus. Capnocytophaga canimorsus Meningitis Diagnosed by 16S rRNA PCR. *Practical Neurology*: 1–3.

WHO. 2003. *Heterotrophic Plate Counts and Drinking-water Safety: The Significance of HPCs for Water Quality and Human Health*. IWA Publishing, London.

WHO. 2004. *Waterborne Zoonoses : Identification, Causes, and Control Edited by J.A. Cotruvo, A. Dufour, G. Rees, J. Bartram, R. Carr, D.O. Cliver, G.F. Craun, R. Fayer and V.P.J. Gannon*. IWA Publishing, London.

WHO. 2009. *WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care : First Global Patient Safety Challenge Clean Care is Safer Care*. WHO Press, Geneva.

Wilson, D. E. dan D. M. Reeder. 2005. *Mammal Species of the World : A Taxonomic and Geographic Reference 3rd Edition*. Johns Hopkins

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

University Press, Baltimore.

Yamaguchi, M. S., H. H. Ganz, A. W. Cho, T. H Zaw, G. Jospin, M. M. McCartney, C. E. Davis, J. A. Eisen, dan D. A. Coil. 2019. Bacteria Isolated from Bengal Cat (*Felis catus* × *Prionailurus bengalensis*) Anal Sac Secretions Produce Volatile Compounds Associated with Animal Signaling. *Plos One* 14(9).

Yousif, A. A., M. S. Hasan dan M. J. Alwan. 2016. Clinical and Molecular Study of *E. coli* O157:H7 Isolated from Diarrheic and Non Diarrheic Dogs. *Mirror of Research in Veterinary Sciences and Animals* 5(2): 1–10.

Yuwono, T. 2009. *Biologi Molekular*. Penerbit Erlangga, Jakarta.

Zein, M. S. A. dan D. M. Prawiradilaga. 2013. *DNA Barcode Fauna Indonesia*. Prenada Media, Jakarta.

Zhang, J., Z. Shen, X. Tang, L. Xu, F. Zhu. 2013. Isolation and Identification of a Pathogen, *Providencia rettgeri* in *Bombyx mori*. *Journal of Bacteriology Research* 5(2): 22–28.

Zhang, R., L. Turner, dan H. C. Berg. 2010. The Upper Surface of an Escherichia coli Swarm is Stationary. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* 107(1): 288–290.

Zilocchi, M., Z. Tagliavini, E. Cianni, A. Gazzano. 2016. Effects of Physical Activity on Dog Behavior. *Dog Behavior* 2(2): 9–14.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id