

## ISOLASI DAN IDENTIFIKASI *Shigella sp.* PENYEBAB DIARE PADA BALITA

### ISOLATION AND IDENTIFICATION OF *Shigella sp.* CAUSES OF DIARRHEA IN TODDLERS

Fitratul Aini

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Jambi, Jambi  
Kampus Pinang Masak, Jln. Raya Jambi-Muaro Bulian KM.15 Mendalo Darat-36361

Email : [fitratulaini47@gmail.com](mailto:fitratulaini47@gmail.com)

#### ABSTRACT

Diarrhea is the highest cause of death for toddlers. This study aims to isolate and identify the bacteria *Shigella sp.* causes of diarrhea in toddlers. Diarrhea samples were obtained from RSIA Annisa, Jambi City then isolation was carried out at the Biotechnology and Engineering Laboratory of the Faculty of Science and Technology, Jambi University using SSA media and dilution and biochemical tests were carried out. The results of bacterial isolates were characterized and obtained by *Salmonella sp.* isolates. With the characteristic of black colonies, capable produce  $H_2S$  gas and can ferment sugar.

**Keywords :** Toddler, Diarrhea, Jambi, *Salmonella sp.* , *Shigella sp.*

#### PENDAHULUAN

Kasus diare merupakan kasus penyebab kematian tertinggi anak dibawah usia 5 tahun diseluruh dunia (Depkes,2011), yakni sekitar 760.000 kasus setiap tahunnya (WHO, 2013). Di Indonesia angka kejadian diare menurut survei morbiditas yang dilakukan departmen kesehatan tahun 2003 berkisar antara 200-374 per 1000 penduduk. Pada Provinsi Jambi persentase kasus diare meningkat pada tahun 2015 yaitu sekitar 8,71% penyakit terbanyak di puskesmas Provinsi Jambi (Bidang Pelayanan Kesehatan, 2015). Diare dapat disebabkan oleh berbagai macam bakteri, menurut penelitian Jafari (2009) diare pada anak balita 26,7% disebabkan oleh bakteri *Shigella sp.*

*Shigella* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang, tunggal, tidak memiliki flagel, aerobik ataupun aerobik fakultatif dan tidak membentuk spora. Suhu optimum pertumbuhan yakni 37°C dimana

habitatnya berada pada saluran pencernaan dengan infeksiya melalui fase oral. Bakteri ini mampu mengeluarkan LT toksik yang akan menginvasi ke epitel sel mukosa usus halus dan berkembang dengan baik pada daerah invasi tersebut.

*Shigella* akan mengeluarkan toksik yang akan merangsang terjadinya perubahan sistematik pada mukosa usus yang dapat menyebabkan sel-sel akan mati pada jaringan epitel usus halus sehingga terjadi tuak kecil didaerah invasi. Menurut Prihastika (2005) diare yang dikeluarkan dapat bercampur dengan lendir dan darah sehingga isolasi bakteri ini dapat dilakukan melalui fases penderita.

Berdasarkan latar belakang diatas maka dilakukanlah praktikum ini untuk dapat mengisolasi bakteri *Shigella* penyebab diare pada balita.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober-November 2017. Sampel feses yang diambil merupakan balita yang sedang menderita diare dari Rumah Sakit Ibu dan Anak (RSIA) Anisa, Jelutung. Isolasi dilakukan dengan pengenceran feses pada akua-des hingga pengenceran ke delapan ( $10^{-8}$ ). Sebanyak 0,1 mL dari pengenceran kelima ( $10^{-5}$ ), ketujuh ( $10^{-7}$ ) dan kedelapan ( $10^{-8}$ ) ditumbuhkan pada media SSA. Kemudian diinkubasi pada suhu 27 °C selama 2 hari.

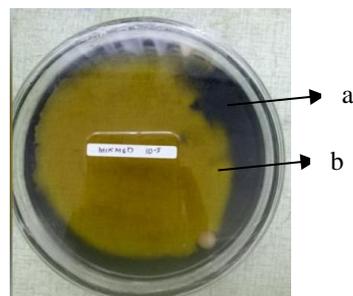
Uji TSIA dilakukan dengan cara mengambil 1 ose bakteri pada isolat media SSA yang kemudian diinokulasikan dengan cara menggores dan cara tusuk pada media miring TSIA dan diinkubasi pada suhu 27 °C selama 2 hari.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Bakteri pada Media SSA (*Salmonella Shigella* Agar).

Diare merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh beberapa bakteri seperti *Vibrio cholera*, *Salmonella* sp., maupun *Shigella* sp. (Lesmana dan Adiclift, 2003). Berdasarkan penelitian yang dilakukan didapat hasil isolat bakteri yang ditumbuhkan pada media SSA diperoleh isolat dengan koloni berwarna hitam dan media berubah menjadi kuning pada hari ke-3 inkubasi.

Koloni bakteri berwarna hitam menandakan bahwa bakteri tersebut berasal dari genus *Salmonella*. Umumnya media SSA, koloni yang tumbuh berupa koloni berwarna hitam dan koloni berwarna putih. Koloni berwarna putih kebanyakan berasal dari koloni bakteri genus *Shigella*.



Gambar 1. Isolat pada media SSA

Keterangan :

- (a) koloni berwarna hitam,
- (b) media berubah dari warna kemerahan menjadi kuning.

Karena koloni yang didapat berwarna hitam maka dapat diperkirakan bahwa bakteri yang menyebabkan diare pada balita tersebut bukan berasal dari genus *Shigella* melainkan dari genus *Salmonella*. Koloni bakteri genus *Salmonella* berwarna hitam ini disebabkan karena koloni bakteri dari genus ini mampu menghasilkan gas  $H_2S$ . Menurut Muktiningsih *et. al.* (2016), komponen utama media SSA (*Salmonella Shigella* Agar) yang berperan dalam selektivitasnya adalah laktosa, pepton, garam empedu, besi (III) sitrat dan indikator retusal red. Prinsip diferensiasi jenis-jenis bakteri tersebut didasarkan pada kemampuan metabolismenya. Bakteri dari genus *Salmonella* dapat menghasilkan  $H_2S$  dan tiosulfat reduktase sehingga akan membentuk koloni berwarna hitam gelap serta menimbulkan bau yang kurang sedap. Hal ini berbeda dengan bakteri dari genus *Shigella*. Bakteri dari genus *Shigella* tidak memfermentasi laktosa dan tidak menghasilkan  $H_2S$  maupun enzim tiosulfat reduktase sehingga koloni yang tumbuh berwarna putih atau tidak berwarna (bening). Bakteri coliform *Escherichia coli* juga dapat tumbuh pada media SSA dengan koloni berwarna merah muda karena

kemampuannya memfermentasi laktosa. Namun tidak menghasilkan gas  $H_2S$  sehingga tidak membentuk endapan hitam (Downes, 2001).

Pada hari ke-3 ( $\pm 72$  jam inkubasi), media yang digunakan berubah warna dari merah muda menjadi kuning. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa media SSA terdiri laktosa, pepton, garam empedu, besi (III) sitrat dan indikator retusal red. Bakteri *Salmonella* sp. menggunakan pepton yang berasal dari media tersebut untuk sumber energi. Hasil samping dari proses metabolisme bakteri tersebut adalah amonia. Amonia mampu menaikkan pH pada media SSA. Karena adanya perubahan pH tersebutlah maka media SSA yang tadinya berwarna kemerahan (merah muda) berubah menjadi warna kuning. Perubahan ini tidak mempengaruhi warna dari koloni bakteri yang tumbuh tersebut. Hal ini sesuai dengan pendapat Muktiningsih *et. al* (2016), dimana bakteri penyebab diare pada balita kebanyakan berasal dari genus *Salmonella*. Namun perlu dilakukan uji lanjutan yaitu uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar) untuk memastikan bakteri tersebut adalah dari genus *Salmonella*.

### Uji Biokimia pada Media TSIA dan Pewarnaan Gram

Tabel 1. Hasil Uji Biokimia pada Media TSIA

No	Uji Biokimia	Tabung 1	Tabung 2	Tabung 3
1	Gas	+	+	+
2	$H_2S$	+	+	+
3	Fermentasi Gula	+	+	+

#### Keterangan

(-) hasil uji negatif

(+) hasil uji positif

Berdasarkan uji biokimia dengan menggunakan media TSIA dan

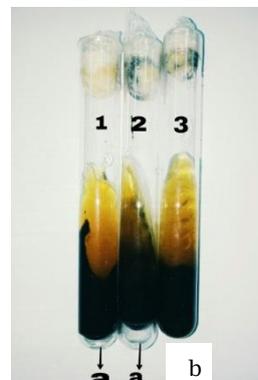
dari pewarnaan Gram pada isolat maka diperoleh hasil yang disajikan dalam tabel 1.

Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) merupakan suatu uji biokimia yang digunakan untuk melihat kemampuan bakteri dalam memfermentasi karbohidrat. Dari hasil uji TSIA pada 3 tabung reaksi didapatkan warna kuning pada bagian atas dan warna hitam di bagian bawah. Warna kuning pada bagian atas tersebut menunjukkan bahwa terjadi reaksi asam. Warna kuning pada bagian ini juga menandakan bahwa bakteri tersebut dapat memfermentasi glukosa dan tidak dapat memfermentasi laktosa dan sukrosa. Menurut Sudarsono (2008), media TSIA mengandung 3 macam gula yaitu glukosa, laktosa dan sukrosa. Pada uji TSIA suatu bakteri dapat memfermentasi laktosa dan sukrosa apabila media pada bagian atas dan bagian bawah berwarna kuning dan dikatakan tidak dapat memfermentasi semua karbohidrat (glukosa, laktosa, dan sukrosa), apabila bagian atas dan bagian bawah berwarna merah.

Selain untuk melihat kemampuan bakteri dalam memfermentasi karbohidrat, uji TSIA juga dapat digunakan untuk mengetahui pembentukan  $H_2S$  yaitu melihat apakah bakteri memfermentasi metionin dan sistein (asam amino yang mempunyai gugus 5). TSIA agar berfungsi untuk mengetahui produksi  $H_2S$  positif atau negatif yang berhubungan dengan sumber sulfur yang terdapat pada media. Salah satu kandungan TSIA adalah sodium tiosulfat. Sodium tiosulfat ini biasanya digunakan bakteri *Salmonella* sebagai sumber sulfur sehingga menghasilkan hidrogen sulfida ( $H_2S$ ). Hidrogen sulfida ( $H_2S$ ) akan bereaksi dengan fem sitrat sehingga menghasilkan fersous

sulfide yang menyebabkan warna hitam pada agar. Hal ini sesuai dengan pendapat Darmawan (2009), yang menyatakan bahwa bakteri *Salmonella* dapat menghasilkan gas  $H_2S$  yang merupakan hasil reduksi dari asam amino yang mengandung sulfur.  $H_2S$  yang dihasilkan akan bereaksi dengan garam Fe dalam media yang kemudian menjadi senyawa  $FeS$  berwarna hitam yang mengendap dalam media.

Pada tabung 1 dan 2 terlihat bahwa media yang digunakan menjadi terangkat ke atas. Hasil fermentasi yang dilakukan oleh bakteri akan menghasilkan asam format. Asam format tersebut jugalah yang berperan dalam perubahan warna media dari merah menjadi kuning. Asam format biasanya dioksidasi menjadi gas hydrogen ( $H_2$ ) dan karbondioksida ( $CO_2$ ) dengan bantuan enzim formate hydrogenase. Gas  $H_2$  bersifat tidak larut dalam media sehingga terakumulasi dalam bentuk gelembung udara di sepanjang jalur inokulasi, antara media dan tabung, atau di dasar tabung. Hal inilah yang menyebabkan media akan terangkat ke atas. Menurut Haryani dkk (2012), fermentasi karbohidrat dapat terjadi secara aerob pada permukaan agar dan secara anaerob pada permukaan dasar agar. Pada permukaan atas glukosa akan dikatabolisme oleh *Salmonella* pada jalur *Embolen-vasherof* menghasilkan asam piruvat yang kemudian didegradasi sempurna dalam siklus asam sitrat menjadi  $CO_2$ ,  $H_2O$ , dan energi. Sedangkan pada dasar agar uji TSIA, katabolisme glukosa akan menghasilkan produk hasil akhir berupa asam-asam organik,  $CO_2$ ,  $H_2$ , dan energy. Hal inilah yang menyebabkan media terangkat.

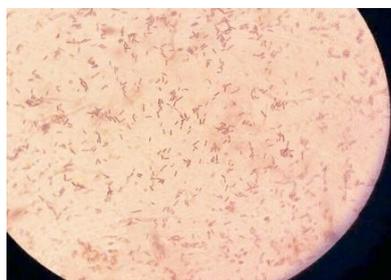


Gambar 2. Isolat pada media TSIA

Keterangan :

- (a) media terangkat,
- (b) media tidak terangkat

Pengujian selanjutnya yaitu uji pewarnaan Gram dan pengamatan menggunakan mikroskop pada biakan.



Gambar 3. Pewarnaan Gram (Perbesaran 100x)



Gambar 4. Bentuk Bakteri (Perbesaran 400x)

Keterangan :

- (a) Bakteri Berbentuk Basil Berwarna Merah Muda

Hasil pewarnaan Gram yang telah dilakukan dapat dilihat pada gambar 3 dan gambar 4. Pada gambar 3 dan 4 menunjukkan bahwa bakteri

berwarna merah muda (pink) yang menandakan bahwa bakteri tersebut tergolong bakteri Gram negatif dengan bentuk batang (basil). Dari hasil ini dapat diduga bahwa bakteri yang terdapat pada feses balita penderita tersebut adalah *Salmonella* sp. Hal ini sesuai dengan penelitian Kurarso (1987) dan penelitian Rosmawati (2009) yang menyatakan bahwa *Salmonella* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang atau silindris atau basil.

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan dengan isolasi bakteri ke media SSA (*Salmonella Shigella Agar*), uji biokimia yakni uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) dan perwarnaan Gram maka bakteri yang terdapat pada feses balita penderita diare tersebut berasal dari genus *Salmonella*. Menurut Dzulkarnain (1996), kasus diare di Indonesia lebih sering disebabkan oleh *Salmonella* sp., *Vibrio cholera*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* selain *Shigella* sp. Selain itu menurut Bukhwetan dkk (2011), salah satu penyebab diare bakterial lainnya adalah *Salmonella*. Derajat salmonellosis di negara-negara maju meningkat dalam sepuluh tahun terakhir (termasuk Indonesia). Infeksi salmonellosis terbanyak menenai bayi, balita, dan beberapa orang dewasa dengan gangguan imunitas. Berikut adalah klasifikasi bakteri yang didapat dari isolasi pada feses balita yang terkena diare

Kingdom : Monera  
Divisi : Dsophyta  
Class : Suhizomycetes  
Ordo : Eubacteriales  
Family : Eubacteriaceae  
Genus : *Salmonella*

(Sumber : Bergeys manual dalam Pelczar dan Reld, 1958)

## KESIMPULAN

Didapatkan jenis bakteri yang berasal dari genus *Salmonella* dan tidak ditemukan *Shigella*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Darmawan, S. 2009. Keanekaragaman Genetik *Salmonella thypi*. *Jurnal kesehatan*. Vol 2(3)
- Dinas Kesehatan Provinsi Jambi. 2011. *Profil Kesehatan*.
- Downes, F.P. dan Ito K. 2001. *Compendium of Methode for Microbiological Experience of Foods, 4th Ed*. Washington DC : APHA
- Haryani, Y., Chairitififah, dan Rustiana. 2012. Fermentasi Karbohidrat oleh *Salmonella* spp. dari Jajanan Pinggir Jalan. *Jurnal Indonesia Chemia Acta*. Vol 3(1) :23-26.
- Jafari F. 2009 . Diagnosa and Prevalence of Enterophatogenic Bacteri in Children with Diarhea in a Rural Area Jordan. *Fems Immunology And Medical Microbiology*. Vol 1 (2).
- Kurarso, B.H. 1987. Beberapa Catatan tentang *Salmonella*. *Jurnal Oskerugrafi*. Vol 12 (4) : 79-90
- Lesmana, M. dan Adiclift M. 2003. Profil Penderita Diare Anak di Puskesmas Rawat Inap Pekanbaru. *Jurnal Ilmu Kesehatan*. Vol 8(2) : 101-105
- Muktiningsih., F. Kurniadewi, dan Immanuel O.R.P. 2016. Isolasi Amflikasi dan Sekuensing Fragmen 1,9 kilobasa Gen Heat Shock Protein 70 *Salmonella enterica* Serovar Thypi. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*. Vol 11(1) : 32-40
- Pelczar, M.J. dan R.D. Reld, 1958. *Microbiology*. New York : Mc Grow Hill Book Company.

- Prihastika, E., Mayor. 2015. Identifikasi *Salmonella sp.* dan *Shigella sp.* Pada Tinja Anak Dengan Diare Yang Berobat Dipuskesmas Rawat Inap Kota Pekan Baru. *Jurnal Mikrobiologi* . Vol 1(2).
- Rosmawati, T. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella thypii*, *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Agar. Bandung : *Respiratory UNPAD*
- World Health Organization. 2013. *Diarrheal Disease*. (Diakses 23 November 2017) Availabel from : [Http://www.who.int/mediacenter/factsheets](http://www.who.int/mediacenter/factsheets).