

Isolasi dan Identifikasi *Enterococcus sp.* dari Feses Lutung Jawa (*Trachypitecus auratus*) di Javan Langur Center

(ENTEROCOCCUS SP. ISOLATION AND IDENTIFICATION IN FECES OF JAVAN
LANGUR (*TRACHYPITECUS AURATUS*) IN JAVAN LANGUR CENTER)

Aisyah Setyaningrum^{1*},
Hapsari Mahatmi², Sri Kayati Widyastuti³

¹Mahasiswa Sarjana Pendidikan Dokter Hewan,

²Laboratorium Bakteriologi dan Mikrobiologi Veteriner,

³Laboratorium Ilmu Penyakit Dalam Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,

Jl. Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234;

Telp/Fax: (0361) 223791

Email: aissetyaningrum@gmail.com

ABSTRAK

Populasi lutung jawa (*Trachypitecus auratus*) yang semakin sedikit di alam, saat ini hanya sekitar 500 ekor. Hal ini disebabkan oleh berbagai faktor, diantaranya perburuan gelap, perubahan pola makan dan penyakit. Upaya untuk pelestarian telah dilakukan, namun karena sangat sedikit informasi ilmiah yang dilaporkan, sehingga upaya hanya sebatas pada tindakan fisik seperti metode penangkaran. Sampai saat ini belum ada penelitian tentang keberadaan *Enterococcus sp.* pada lutung jawa, khususnya pada saluran ususnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya *Enterococcus sp.* pada saluran usus lutung jawa, karena bakteri ini merupakan reservoir penting dari gen resistansi antibiotik. Penelitian ini dilakukan di pusat penangkaran lutung jawa di Javan Langur Center. Sampel lutung jawa (*Trachypitecus auratus*) sebanyak dua ekor yang baru masuk ke penangkaran. Spesimen berupa swab rektum yang diambil dengan menggunakan *cotton swab* steril sesuai dengan prosedur *medical check-up*. Kemudian dilanjutkan dengan metode isolasi pada media *Sheep Blood Agar* (SBA) dan *MacConkey Agar* (MCA) dan pewarnaan Gram serta dilanjutkan dengan prosedur identifikasi menggunakan uji biokimia meliputi: *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), uji *Sulfide Indole Motility* (SIM), uji *Simmon Citrate Agar*, uji *Methyl Red Voges Proskauer* (MRVP), dan uji urease. Hasil penelitian mengindikasikan bahwa semua sampel lutung jawa yang baru masuk penangkaran ternyata semua ditemukan adanya *Enterococcus sp.* di saluran ususnya. Hal ini sangat menarik untuk dilakukan penelitian lebih lanjut tentang adanya sifat resistensi antibiotik, yang sangat erat kaitannya dengan kesehatan manusia.

Kata-kata kunci: lutung jawa; *Enterococcus sp.*; saluran usus

ABSTRACT

The population of javan lutung (*Trachypitecus auratus*) is decreasing in nature which is currently only around 500 individuals. This is due to various factors, including illegal poaching, changes in diet and disease. Efforts for conservation have been made but very little scientific information is reported so that efforts are limited to physical measures such as captive methods. Until now there has been no research on the presence of *Enterococcus sp.* in Javan langurs, especially in the its intestinal tract. The purpose of this study was to determine the presence of *Enterococcus sp.* in the intestines of javan langur, because *Enterococcus sp.* is an important reservoir of bacteria for antibiotic resistance genes. This research was conducted at the Javan Langur Center. Two Samples of javan langur (*Trachypitecus auratus*) were used that have just entered captivity. The rectal swab specimens were taken by a sterile cotton swab in accordance with the medical check-up procedure. Then were proceed with the isolation on Sheep Blood Agar (SBA), MacConkey Agar (MCA), and Gram staining, followed by identification procedures by biochemical tests including: Triple Sugar Iron Agar (TSIA),

Sulfide Indole Motility (SIM) test, Simmon test Citrate Agar, Methyl Red Voges Proskauer (MRVP) test, and urease test. The results indicated that all samples of the Javan langur that had just entered captivity were all found to have *Enterococcus sp.* in the intestinal tract, especially in the intestines. It is very interesting to do further research on the nature of antibiotic resistance, which is very closely related to human health.

Keywords: *Javan langur*; *Enterococcus sp.*; intestinal tract

PENDAHULUAN

Lutung jawa (*Trachypithecus auratus*) merupakan primata yang dilindungi menurut Keputusan Menteri Kehutanan dan Perkebunan No. 733/Kpts-II/1999 (jenis ini tidak disebutkan sebagai satwa dilindungi dalam Peraturan Pemerintah No. 7 Tahun 1999 tentang Pengawetan Jenis Tumbuhan dan Satwa). Lutung jawa juga digolongkan dalam status rentan oleh IUCN (*International Union for Conservation of Nature and Natural Resources*) karena populasinya dikhawatirkan akan terus menurun akibat perburuan dan degradasi habitat. Lutung jawa oleh Nijman (2021) dimasukkan dalam kategori *Vulnerable* (*Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*). Populasi yang semakin sedikit di alam dapat disebabkan oleh banyak hal, salah satunya penyakit yang diakibatkan oleh bakteri. Penelitian ini merupakan salah satu upaya untuk meningkatkan kualitas konservasi *ex situ* dalam manajemen penangkaran, *breeding program* rehabilitasi, dan pembebasan ke habitat aslinya.

Lutung jawa termasuk primata dari subfamili *Colobine* yang tergolong sebagai hewan folivora. Primata jenis ini memiliki saluran usus yang kaya mikroorganisme komensal yang berfungsi mencerna sumber energi dari pakan yang sulit dicerna. Program penangkaran *colobine* merupakan strategi yang efektif saat ini untuk mempertahankan populasinya. Salah satu kendala adalah tingginya angka kematian *colobine* akibat gangguan pada saluran usus yang sampai saat ini belum diketahui dengan pasti penyebabnya (Amato *et al.*, 2016). Salah satu bakteri pada saluran usus yang tergolong mikroorganisme komensal pada mamalia adalah *Enterococcus sp.*

Secara umum, hewan dapat diklasifikasikan berdasarkan karakteristik tempat fermentasi pencernaannya yaitu fermentasi usus depan atau usus belakang. Menurut definisi, fermentasi usus depan memiliki ruang fermentasi pre-gastrik sedangkan fermentasi usus belakang memiliki kompartemen fermentasi yang diperbesar di bagian sekum dan/atau usus besar (Stevens *et al.*, 1998). Komunitas mikrobiota yang bersifat mutualistik pada saluran gastrointestinal, memberikan kontribusi penting bagi nutrisi semua mamalia (Mackie, 2002). Komponen mikrobiota dapat memfasilitasi ekstraksi energi dari nutrisi, deposisi lemak di

jaringan adiposa dan membantu memelihara mikroba penghuni usus lainnya, selain itu dapat menghilangkan patogen melalui eksklusi. Salah satu kemampuan utama mikrobiota usus adalah mengubah senyawa struktural tanaman yang tidak dapat dicerna seperti selulosa menjadi *short-chain fatty acids* (SCFA) yang dapat diserap langsung oleh inangnya dan digunakan untuk energi (Flint *et al.*, 2012).

Enterococcus sp. berbentuk kokus dalam rantai pendek dan medium. Selain sebagai bakteri komensal dalam saluran usus, beberapa mampu menyebabkan infeksi saluran kemih, bakterimia, dan endokarditis infektif dan sesekali menyebabkan infeksi intra-abdominal dan meningitis. Umumnya bersifat nosokomial, sehingga sulit diobati. *Enterococcus sp.* memiliki kemampuan intrinsik dengan membentuk gen resisten terhadap beberapa antibiotik yang melalui mekanisme mutasi gen mampu mempengaruhi bakteri yang masih peka menjadi resistan (Said *et al.*, 2021).

Berdasarkan hal tersebut, maka tindakan konservasi sangat perlu dilakukan baik secara (*in situ*) di habitat alami maupun di luar habitat alami (*ex situ*) guna meningkatkan populasi serta kesejahteraan satwa yang bersangkutan (Putri, 2020). Salah satu upaya adalah mengumpulkan sumber ilmiah tentang berbagai aspek kehidupan dari Lutung jawa.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya *Enterococcus sp.* pada saluran usus lutung jawa, karena bakteri ini bersifat reservoir penting bagi gen resistensi antibiotik yang berkaitan dengan kesehatan manusia dan upaya pelestarian lutung jawa.

METODE PENELITIAN

Persiapan Sampel dan Bahan Isolasi

Sampel penelitian adalah lutung jawa yang berasal dari masyarakat yang baru masuk ke dalam penangkaran di Pusat Konservasi *Javan Langur Center* sebanyak dua ekor lutung (Gambar 1). Spesimen pemeriksaan berupa *swab* rektum yang diambil dengan *cotton swab* steril yang diswab pada bagian bagian rektum sesuai dengan prosedur *medical check-up* yang dilaksanakan setiap tiga bulan.



Gambar 1. Kandang karantina Lutung jawa di Pusat Konservasi *Javan Langur Center*, Batu, Malang

Kandang karantina diletakkan relatif jauh dari kandang kelompok lutung yang lain, sebagai upaya isolasi dan menjaga agar tidak menularkan penyakit yang dibawa oleh lutung jawa yang baru masuk. Ukuran kandang adalah panjang 2 m dan lebar 2 m serta tinggi 1,5 m dengan lantai kandang berupa jeruji besi, sehingga kotoran mudah jatuh ke lantai untuk dibersihkan serta disediakan tempat makan dan tempat minum yang setiap hari diganti. Setiap kandang karantina berisi satu ekor lutung jawa yang baru masuk.

Pengambilan sampel dilaksanakan pada bulan 24 Juni 2021 dengan prosedur pengambilan sampel. Lutung jawa dipuaskan selama 12 jam sebelum dilaksanakan *medical check-up*. Lutung jawa kemudian dipindahkan ke kandang jepit untuk mempermudah penanganannya anestesi. Tindakan anestesi menggunakan dosis Ketamine HCL 10% 5 mg/kg BB (Ket-100-A[®], Interchemie, Venray, Holland) dan Medetomidine 50 µg/kg BB (Dormitor[®], Orion Pharma, Espoo, Finland). Kemudian secara hati-hati spesimen diambil dari rektum lutung jawa menggunakan *cotton swab sterile* (OneMed Health Care[®] P:15cm) dengan kedalaman ± 5 cm, dan diusapkan ke dinding rektum searah jarum jam (Gambar 2).



Gambar 2. Proses pengambilan spesimen dari sampel Lutung jawa di *Javan Langur Center*

Selanjutnya spesimen feses yang pada *cotton swab steril* dipindahkan ke dalam tabung *ependorf* steril 1,5 mL yang berisi media transport *Stuart Transport Medium* (Oxoid®, Stuart Transport Medium, Oxoid Ltd., Basingstoke, England), kemudian tabung yang berisi spesimen feses disimpan di dalam *coolbox*. Pemeriksaan terhadap spesimen *swab* rektal selanjutnya dilakukan di Laboratorium Satwa Sehat, Batu, Malang.

Isolasi dan Identifikasi *Enterococcus sp.*

Proses isolasi dan identifikasi dilakukan di Laboratorium Satwa Sehat, Batu, Malang. Isolasi dikerjakan dengan metode *streak plate quadrant method* yang diawali dengan menggoreskan spesimen diatas permukaan media. Isolasi bakteri dilakukan pada media *Sheep Blood Agar* (SBA, Oxoid: CM 0854) dan *MacConkey Agar* (MCA, Oxoid: CM0007B) yang kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk dilakukan identifikasi secara makroskopis. Koloni yang didapat dari *MacConkey Agar* kemudian digoreskan ke media selektif diferensial untuk bakteri Gram negatif yang mengandung laktosa *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA Oxoid CM.0069). Untuk mengetahui bentuk bakteri maka dikonfirmasi dengan pewarnaan Gram.

Identifikasi bakteri dilakukan berdasarkan Bergey *et al.* (1994). Uji yang dilakukan meliputi: *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), uji *Sulfide Indole Motility* (SIM), uji *Simmon Citrate Agar*, uji *Methyl Red Voges Proskauer* (MRVP), dan uji urease. Penentuan spesies bakteri didasarkan pada hasil reaksi biokimia bakteri pada media uji dan dikonfirmasi dengan acuan pustaka (Bergey *et al.*, 1994; Manero *et al.*, 1999).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Umum Lutung Jawa

Berdasarkan hasil medical *check-up* awal yang dilakukan, didapatkan bahwa dua ekor sampel lutung jawa dinyatakan sehat, yaitu nafsu makan baik, gerakan cukup lincah, namun dari pengamatan feses ditemukan adanya konsistensi feses yang cair dan pembesaran kelenjar limfa pada beberapa tempat, diantaranya pada kelenjar limfa inguinalis. Hal ini menunjukkan adanya proses aktivitas respons imun atau pertahanan tubuh terhadap suatu penyakit. Salah satu mekanisme hewan di penangkaran untuk mengatasi stres antara lain regulasi respon stres dan sistem imun (McEwen, 1998; Cohen, *et al.*, 2002). Meskipun peradangan adalah fungsi kekebalan yang penting untuk melawan penyakit atau suatu infeksi pada tubuh, seringkali peningkatan kadar sitokin yang berlebihan justru menurunkan kepekaan sistem kekebalan dan

meningkatkan keparahan penyakit, termasuk peningkatan neurodegeneratif, metabolisme dan kardiovaskular (Powell *et al.*, 2013; Cohen *et al.*, 2012; Miller *et al.*, 2009).

Isolasi dan Identifikasi *Enterococcus sp.*

Hasil isolasi spesimen *swab* rektal dari Lutung jawa dari kandang penangkaran di Java Langur Center, tersaji pada Tabel 1.

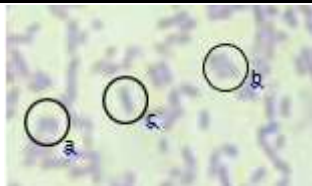

Tabel 1. Hasil isolasi sampel feses Lutung Jawa di Javan Langur Center, Batu, Jawa Timur

Nama Media	Isolat 1 (sampel 1)	Isolat 2 (sampel 2)
<i>Sheep Blood Agar</i> (SBA)	γ -hemolisin	γ -hemolisin
<i>MacConkey Agar</i> (MCA)	transparan	transparan
<i>Eosin Methylene Blue Agar</i> (EMBA)	metalik	metallik
Kondisi Klinis	sehat	sehat

Isolasi pada agar darah, tampak koloni dari kedua spesimen memberikan reaksi hemolisis yaitu: γ (gamma) hemolisin. Kemampuan bakteri menghemolisis darah menunjukkan indikasi bahwa kemungkinan adanya bakteri patogen. Bakteri yang mampu memproduksi γ -hemolisin antara lain *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* dan *Streptococcus spp.* Sedangkan bakteri yang termasuk ke dalam β -hemolisin antara lain *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus spp.* (Bergey, 1957; Manero *et al.*, 1999)

Hasil pewarnaan Gram memberikan informasi bahwa bakteri yang mendominasi adalah berbentuk kokus berderet pendek dan sedang serta bersifat Gram positif (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil pewarnaan gram sampel feses Lutung jawa di Javan Langur Center, Batu, Jawa Timur

Nama Media	Isolat 1	Isolat 2
Perbesaran 1000 kali		
Morfologi	kokus (a), basil (b), spiral (c)	kokus (a), bacil (b)

Enterococcus sp. merupakan bakteri Gram positif berbentuk kokus yang umumnya membentuk rantai atau susunan yang berpasangan. Pada kondisi pertumbuhan tertentu bakteri ini dapat membentuk rantai panjang.

Hasil dari uji biokimia (Tabel 3) menunjukkan bahwa bakteri yang di uji bersifat motil, menurut Bergey *et al.* (1994) dinyatakan bahwa secara umum bakteri enterik bersifat motil. *Enterococcus sp.* diidentifikasi berdasarkan penampakan pada pewarnaan gram, pertumbuhan pada NaCl 6,5%, katalase-negatif, pertumbuhan pada media *esculin* empedu. Tes lain seperti

resistensi *bacitracin* dan tes Voges-Proskauer positif juga digunakan untuk konfirmasi isolat sebagai *enterococci*. Spesiasi isolat dilakukan dengan menggunakan uji konvensional yang dibuat oleh Facklam *et al.* (1989) yang didasarkan pada fermentasi karbohidrat menggunakan larutan 1% glukosa, manitol, rabinosa, rafinosa, sorbitol, sukrosa, laktosa, trehalosa, dan insulin; dengan uji pemanfaatan piruvat; dekarboksilasi arginin; hidrolisis hippurat; tes motilitas; hidrolisis pati; produksi polisakarida dan pencairan gelatin (Parameswarappa, *et al.*, 2013).

Tabel 3. Hasil isolasi biokimia sampel feses lutung jawa di *Javan Langur Center*, Batu, Jawa Timur

	Isolat 1	Isolat 2
Glukosa	+	+
Sukrosa	+	+
Laktosa	+	+
Maltosa	+	+
Motilitas	+	+
H ₂ S	+	+
Indol	-	-
MR	+	-
VP	+	+
SCA	-	-
Gram	+	+

Genus *Enterococcus* terdiri lebih dari 50 spesies yang hidup sebagai bakteri komensal di saluran pencernaan serangga, burung, reptil, dan mamalia. Genus *Enterococcus* yang paling sering ditemui di saluran pencernaan hewan antara lain *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. hirae*, *E. durans*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, dan *E. mundtii* (Poeta *et al.*, 2005; Cassenego *et al.*, 2011; Lozano *et al.*, 2016; Medeiros *et al.*, 2017). Dinamakan entero untuk menekankan habitat usus bakteri ini. *Enterococcus faecalis* dan *Enterococcus faecium* pertama kali diisolasi pada awal 1900-an dan merupakan spesies paling melimpah dari genus ini yang ditemukan di mikrobiota feses manusia (Dubin *et al.*, 2017). Mikrobiota gastrointestinal primata terdiri dari komunitas mikrobioma yang beragam, termasuk *Enterococcus sp.* (Lebreton *et al.*, 2014). Grassotti *et al.* (2021) melaporkan bahwa terdapat *Enterococcus* pada gigi *Sapajus nigrinus* yang berlubang. Studi ini membuktikan adanya hubungan genetik antara *enterococci* rektal dan oral yang diisolasi dari *Sapajus nigrinus* yang liar.

Lingkungan, manusia, dan hewan memainkan peran penting dalam penyebaran bakteri resisten antibiotik. *Enterococcus sp.* merupakan mikroflora normal pada saluran pencernaan manusia dan hewan dan mewakili reservoir penting gen resistensi antibiotik (Grassotti *et al.*, 2018). Sampai saat ini masih sedikit peneliti yang telah meneliti tentang infeksi *Enterococcus*

pada primata *colobine*. Penyebab penyakit pada *colobine* di penangkaran adalah gangguan pencernaan yang tidak diketahui penyebabnya. Kemungkinan adalah perubahan komposisi pakan yang sangat berbeda yang menyebabkan perubahan populasi dan keragaman jenis mikroorganisme dalam saluran usus. Umumnya *colobine* liar di habitat alam mengkonsumsi makanan kaya serat yang didominasi oleh dedaunan, sedangkan di penangkaran komposisi pakan yang diberikan berupa buah-buahan dan sayur atau dedaunan yang memiliki kandungan serat yang jauh lebih (Nijboer *et al.*, 1996; Oftedal, 1991).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa pada saluran usus lutung jawa di *Javan Langur Center*, Batu, Malang telah ditemukan bakteri *Enterococcus sp.*

SARAN

Berdasarkan hasil temuan bakteri pada penelitian, maka disarankan dilakukan penelitian lanjutan meliputi uji resistensi antibiotik terhadap bakteri terkait. Identifikasi lebih lanjut *Enterococcus sp.* secara molekuler untuk menentukan struktur molekuler dan genetiknya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami ucapkan kepada Pengelola *Javan Langur Center*, Laboratorium Satwa Sehat, Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Veteriner, Rumah Sakit Hewan Universitas Udayana, serta pihak-pihak terkait yang telah memberikan izin kepada penulis serta membantu penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Amato K, Metcalf, Song SJ, Hale V, Clayton J, Ackermann G, Humphrey G, Niu K, Cui D, Zhao H, Schrenzel MD, Tan CL, Knight R, Braun J. 2016. Using the gut microbiota as a novel tool for examining colobine primate GI health. *Global Ecology and Conservation* 7: 225-237.
- Bergey DH, Breed RS, Murray EGD, Hitchens AP. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 7th Ed. Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore. Hlm. 480-684.
- Cassenege APV, d'Azevedo PA, Ribeiro, Andrea ML, Frazzon, Jeverson, Van DeR Sand S, Frazzon APG. 2011. Species distribution and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from broilers infected experimentally with *Eimeria spp* and fed with diets containing different supplements. *Brazilian Journal of Microbiology* 42(2): 480-488.

- Cohen S, Janicki-Deverts D, Doyle W, Miller G, Frank E, Rabin B, Turner R. 2012. Chronic stress, glucocorticoid receptor resistance, inflammation, and disease risk. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109(16): 5995-5999.
- Cohen S, Janicki-Deverts D, Miller G. 2002. Psychological stress and disease. *Journal of the American Medical Association* 298(14): 1685-1687.
- Dubin K, Pamer E. 2017. Enterococci and their interactions with the intestinal microbiome. *Microbiology spectrum* 5(6): 5-6.
- Facklam R, Collins M. 1989. Identification of Enterococcus species isolated from human infections by a conventional test scheme. *Journal of clinical microbiology* 27(4): 731-734.
- Flint HJ, Scott KP, Louis P, Duncan SH. 2012. The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology* 9(10): 577-589.
- Grassotti TT, de Angelis ZD, Xavier CLF, Gomes DAAJ, Inhoque PR, Oliveira SR, Carniel WPG, Jeverson F, Guedes FAP. 2018. Antimicrobial resistance profiles in Enterococcus spp. isolates from fecal samples of wild and captive black capuchin monkeys (*Sapajus nigritus*) in South Brazil. *Frontiers in microbiology* 9: 1-10.
- Grassotti TT, de Angelis ZD, Xavier CLF, Gomes DAAJ, Inhoque PR, Oliveira SR, Carniel WPG, Frazzon J, Frazzon APG. 2021. Intra and inter-monkey transmission of bacteria in wild black capuchin monkeys (*Sapajus nigritus*): a preliminary study. *Brazilian Journal of Biology* 82: 1-3.
- Nijman V. 2021. *Trachypithecus auratus*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2021*: e.T39848A17988500. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2021-1.RLTS.T39848A17988500.en>. (Diakses pada 21 Juli 2022)
- Lebreton F, Willems R, Gilmore M. 2014. *Enterococcus diversity, origins in nature, and gut colonization*. National Center for Biotechnology Information. Boston, Massachusetts. Massachusetts Eye and Ear Infirmary. Hlm. 1-59
- Lozano C, Gonzalez-Barrio D, Camacho CM, Lima-Barbero JF, Puente JDLA, Höfle U, Carmen T. 2016. Characterization of fecal vancomycin-resistant enterococci with acquired and intrinsic resistance mechanisms in wild animals, Spain. *Microbiology Ecology* 72(4): 813–820.
- Mackie RI, McSweeney CS, Klieve AV. 2002. Microbial ecology of the ovine rumen. In: *Sheep nutrition*. Wallingford, Oxon. CABI Publishing. Hlm: 71-94.
- Manero A, Blanch AR. 1999. Identification of *Enterococcus spp.* with a Biochemical Key. *Applied and Environmental Microbiology Journal* 65(10): 4425-4430.
- McEwen B. 1998. Stress, adaptation, and disease: Allostasis and allostatic load. *Annals of the New York academy of sciences* 840(1): 33-44.
- Medeiros AW, Amorim DB, Tavares M, de Moura TM, Franco AC, d'Azevedo PA, Frazzon J, Frazzon APG. 2017. *Enterococcus* species diversity in fecal samples of wild marine species as determined by real-time PCR. *Canadian Journal of Microbiol* 63(2): 129-136.
- Miller G, Chen E, Fok A, Walker H, Lim A, Nicholls E, Cole S, Kobor M. 2009. Low early-life social class leaves a biological residue manifested by decreased glucocorticoid and increased proinflammatory signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(34): 14716-14721.
- Nijboer J, Dierenfeld E. 1996. Comparison of diets fed to southeast Asian colobines in North American and European zoos, with emphasis on temperate browse composition. *Zoo Biology* 15(5): 499-507.

- Oftedal O. 1991. The nutritional consequences of foraging in primates: the relationship of nutrient intakes to nutrient requirements. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 334(1270): 161-170.
- Parameswarappa J, Metri BP. 2013. Isolation, identification, and antibiogram of enterococci isolated from patients with urinary tract infection. *Annals of African Medicine* 12(3): 176-181.
- Poeta P, Carpacia DC, Saenz Y, Klibi N, Ruiz-Larrea F, Rodrigues J, Torres C. 2005. Characterization of antibiotic resistance genes and virulence factors in faecal enterococci of wild animals in Portugal. *J. Vet. Med. B Infect Dis Vet Public Health* 52(9): 396-402.
- Powell N, Sloan E, Bailey N, Arevalo J, Miller G, Chen E, Kobor M, Reader B, Sheridan J, Cole S. 2013. Social stress up-regulates inflammatory gene expression in the leukocyte transcriptome via β -adrenergic induction of myelopoiesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110(41): 16574-16579.
- Putri R. 2020. Pola Perilaku Harian Lutung jawa (*Trachypithecus auratus*) di Javan Langur Center, Kota Batu, Jawa Timur. Skripsi. IPB University. Bogor.
- Said M, Tirthani E, Lesho E. 2021. Enterococcus Infections. *StatPearls Publishing*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK567759/> (Diakses pada 21 Juli 2022)
- Stevens CE, Hume ID. 1998. Contributions of microbes in vertebrate gastrointestinal tract to production and conservation of nutrients. *Physiological reviews* 78(2): 393-427.