

**DUGAAN CEMARAN *Aeromonas hydrophila* PADA IKAN LELE (*Clarias sp*)
KONSUMSI YANG DIJUAL DI PASAR DINOYO, KOTA MALANG**

SKRIPSI

Oleh:

**MULIANDANY RIBKASARI TAMBUNAN
NIM. 165080300111034**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2020



**DUGAAN CEMARAN *Aeromonas hydrophila* PADA IKAN LELE (*Clarias sp*)
KONSUMSI YANG DIJUAL DI PASAR DINOYO, KOTA MALANG**

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat Meraih Gelar
Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh :

**MULIANDANY RIBKASARI TAMBUNAN
NIM. 165080300111034**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2020



SKRIPSI

**DUGAAN CEMARAN *Aeromonas hydrophila* PADA IKAN LELE (*Clarias sp*)
KONSUMSI YANG DIJUAL DI PASAR DINOYO, KOTA MALANG**

Oleh:

**MULIANDANY RIBKASARI TAMBUNAN
NIM. 165080300111034**

Telah dipertahankan didepan pembimbing
Pada tanggal 15 Juni 2020
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

Menyetujui,
Dosen Pembimbing



(Dr. Ir. M. Firdaus, MP)

(Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MSi)

NIP. 19680919 200501 1 001

NIP. 19640726 198903 2 004

Tanggal: 7/8/2020

Tanggal: 7/8/2020



IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : **DUGAAN CEMARAN *Aeromonas hydrophila* PADA IKAN LELE (*Clarias sp*) KONSUMSI YANG DIJUAL DI PASAR DINOYO, KOTA MALANG**

Nama Mahasiswa : Muliandany Ribkasari Tambunan
NIM : 165080300111034
Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

PENGUJI PEMBIMBING:
Pembimbing 1 : Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, M.Si

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:
Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. M. Firdaus, MP
Dosen Penguji 2 : Angga Wira Perdana, SPi., MP

Tanggal Ujian : 15 Juni 2020



PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Muliandany Ribkasari Tambunan

NIM : 165080300111034

Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang saya tulis ini adalah benar hasil karya saya sendiri dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali tertulis dalam literatur yang terdapat dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut sesuai dengan hukum yang berlaku

Malang, 01 Maret 2020

Mahasiswa,

Muliandany Tambunan



UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur saya panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena rahmat dan karuniaNya saya dapat menyelesaikan laporan skripsi ini. Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada:

1. Kedua orang tua dan semua keluarga saya yang selalu memberikan doa dan dukungan selama penyusunan laporan skripsi ini.
2. Ibu Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, M.Si. selaku Dosen Pembimbing, yang telah memberikan arahan dan bimbingan selama penyusunan sampai dengan selesainya laporan skripsi ini.
3. Pak Slamet dan Mba Mega yang telah memberikan ruang dan waktu untuk berbagi ilmu serta pengetahuan kepada kami.
4. Keluarga besar bimbingan Bu Hartati: Alfin, Drian, Fuad, Taufik, Tita, Gita, Fadhel, Nazila, Regita, Gilang, Lilik, Ladysma, Nela, Luqman, dan Aishah yang telah bekerjasama dan saling membantu selama rangkaian proses skripsi berlangsung.
5. Teman-teman saya yang tercinta: Yola, Elya, Raina, Juli, Eka, Viani, Iren, Lestari, Lela, Febri, Gita, Nazila, A'ant, Aiwa, dan Juwid, yang telah memberikan semangat moril selama pengerjaan laporan skripsi ini.
6. Keluarga Dunamis, KMKK, PMK Immanuel dan Keluarga THP 2016 yang telah memberikan doa dan semangat moril
7. Saudara-saudara, sahabat-sahabat, teman-temanku yang membantu, menemani dan memberikan dorongan sehingga laporan ini bisa terselesaikan.

Malang, 01 Maret 2020

Penulis

RINGKASAN

MULIANDANY, RIBKASARI, TAMBUNAN. Dugaan Cemaran *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Lele (*Clarias sp*) Konsumsi yang dijual di Pasar Dinoyo, Kota Malang (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, M.Si.**)

Pasar Dinoyo merupakan salah satu pasar tradisional di Malang yang mempunyai keterkaitan sejarah dengan perkembangan sosial ekonomi masyarakat Malang. Pasar Dinoyo menjual mulai dari pakaian, perabotan rumah tangga, daging, ayam, aneka sayuran, dan berbagai hasil perikanan seperti ikan lele. Ikan lele merupakan komoditas ikan air tawar yang digemari masyarakat karena cita rasa yang enak dan harganya ekonomis. Peningkatan permintaan ikan lele saat ini juga diiringi dengan resiko keamanan ikan lele dari dugaan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* yang dapat menyebabkan penyakit MAS pada ikan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai dugaan cemana *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele (*Clarias sp.*) konsumsi yang di jual Pasar Dinoyo, Malang. Penelitian dilakukan pada bulan Januari hingga Maret tahun 2020 di Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perikanan, Divisi Keamanan Hasil Perikanan dan Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif yang bersifat studi kasus. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *purposive sampling* dengan karakteristik sampel yang menunjukkan gejala klinis infeksi *Aeromonas hydrophila*. Pengujian biokimia yang dilakukan menggunakan *microbact system*.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat resiko infeksi *Aeromonas hydrophila* yang dijual di Pasar Dinoyo. Bakteri yang teridentifikasi dari ikan lele di Pasar Dinoyo yaitu *Citrobacter freundii*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis* dan bakteri *Proteus mirabilis*. Hal ini menandakan bahwa ikan lele tersebut tidak layak dikonsumsi karena keamanan dan kebersihannya kurang diperhatikan.

Maka dari itu keamanan ikan lele konsumsi merupakan faktor penting yang harus diperhatikan, seiring meningkatnya konsumsi ikan lele dimasyarakat. Saran yang dapat diberikan adalah perlu dilakukannya sosialisasi terhadap konsumen atau masyarakat dan para pedagang mengenai keamanan ikan lele (*Clarias sp.*) dari bakteri dengan mengenali gejala klinis yang ditimbulkan.

KATA PENGANTAR

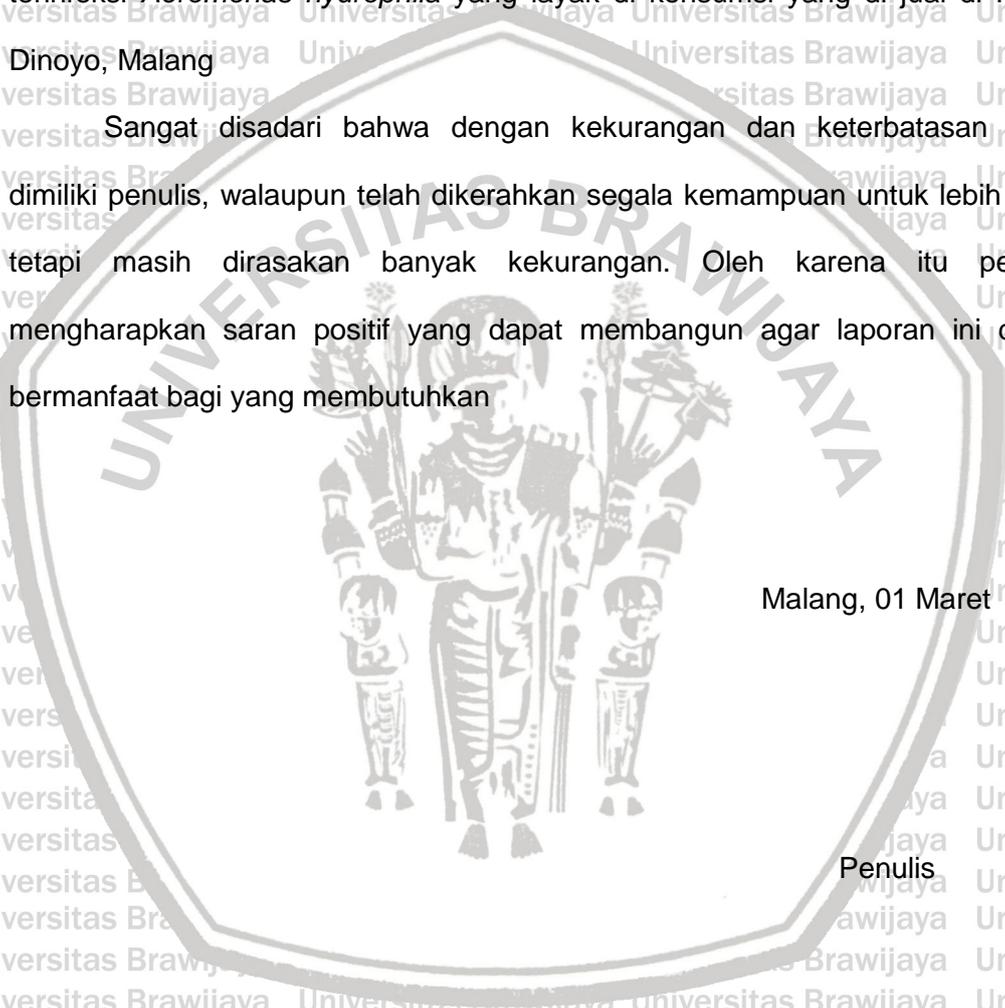
Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyajikan beberapa bahasan yang meliputi penjelasan mengenai pemilihan ikan lele terinfeksi *Aeromonas hydrophila* yang layak di konsumsi yang di jual di Pasar

Dinoyo, Malang

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangan. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran positif yang dapat membangun agar laporan ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan

Malang, 01 Maret 2020

Penulis



DAFTAR ISI

Halaman

RINGKASAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Kegunaan.....	3
1.5 Tempat dan Waktu.....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Pasar Dinoyo.....	4
2.2 Ikan Lele (<i>Clarias sp.</i>).....	5
2.3 Deskripsi dan Klasifikasi <i>Aeromonas hydrophila</i>	7
2.4 Morfologi <i>Aeromonas hydrophila</i>	8
2.5 Lingkungan dan Penyebaran <i>Aeromonas hydrophila</i>	9
2.6 Patogenitas <i>Aeromonas hydrophila</i>	10
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	11
3.1 Alat dan Bahan Penelitian.....	11
3.2 Metode Penelitian.....	11
3.3 Teknik Pengambilan Sampel.....	12
3.4 Prosedur Penelitian.....	12
3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	13
3.4.2 Pembuatan Media RS.....	13
3.4.3 Pembuatan Media TSA.....	14
3.4.4 Pembuatan Media TSA.....	15
3.4.5 Pembuatan Media Gelatin.....	16
3.4.6 Preparasi Sampel.....	17
3.4.7 Isolasi Bakteri dari Ikan Lele (<i>Clarias sp.</i>).....	17
3.4.8 Inokulasi dan Peremajaan Bakteri.....	18
3.4.9 Uji Biokimia.....	18
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Pedagang Lele di Pasar Dinoyo.....	24
4.2 Pengamatan Gejala Klinis Ikan Lele.....	25
4.3 Hasil Isolasi dan Peremajaan Bakteri.....	27
4.4 Uji Biokimia <i>Presumptive</i>	29
4.5 Uji Biokimia <i>Determinative</i>	31
5. PENUTUP	41
5.1 Kesimpulan.....	41
5.2 Saran.....	41



DAFTAR PUSTAKA
LAMPIRAN

42
44



DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Komposisi Kandungan Gizi Ikan Lele	7
Tabel 2. Morfologi Koloni Bakteri	28
Tabel 3. Hasil Uji Biokimia <i>Presumptive</i>	31
Tabel 4. Hasil Uji Biokimia <i>Determinative</i> Isolat Bakteri Minggu Pertama	35
Tabel 5. Hasil Uji Biokimia <i>Determinative</i> Isolat Bakteri Minggu Kedua	36
Tabel 6. Hasil Uji Biokimia <i>Determinative</i> Isolat Bakteri Minggu Ketiga	37
Tabel 7. Hasil Uji <i>Determinative</i> Isolat Bakteri	40



DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Pasar Dinoyo Malang..... 5

Gambar 2. Ikan lele (*Clarias sp.*) 6

Gambar 3. Morfologi Ikan Lele Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*..... 6

Gambar 4. Morfologi Sel *Aeromonas hydrophila*..... 9

Gambar 5. Kondisi Lingkungan Pedagang Ikan Lele 24

Gambar 6. Gejala Klinis Organ Ekstenal Ikan Lele..... 25

Gambar 7. Gejala Klinis Organ Ginjal Ikan Lele..... 26

Gambar 8. Koloni Terduga Bakteri *Aeromonas hydrophila* 27

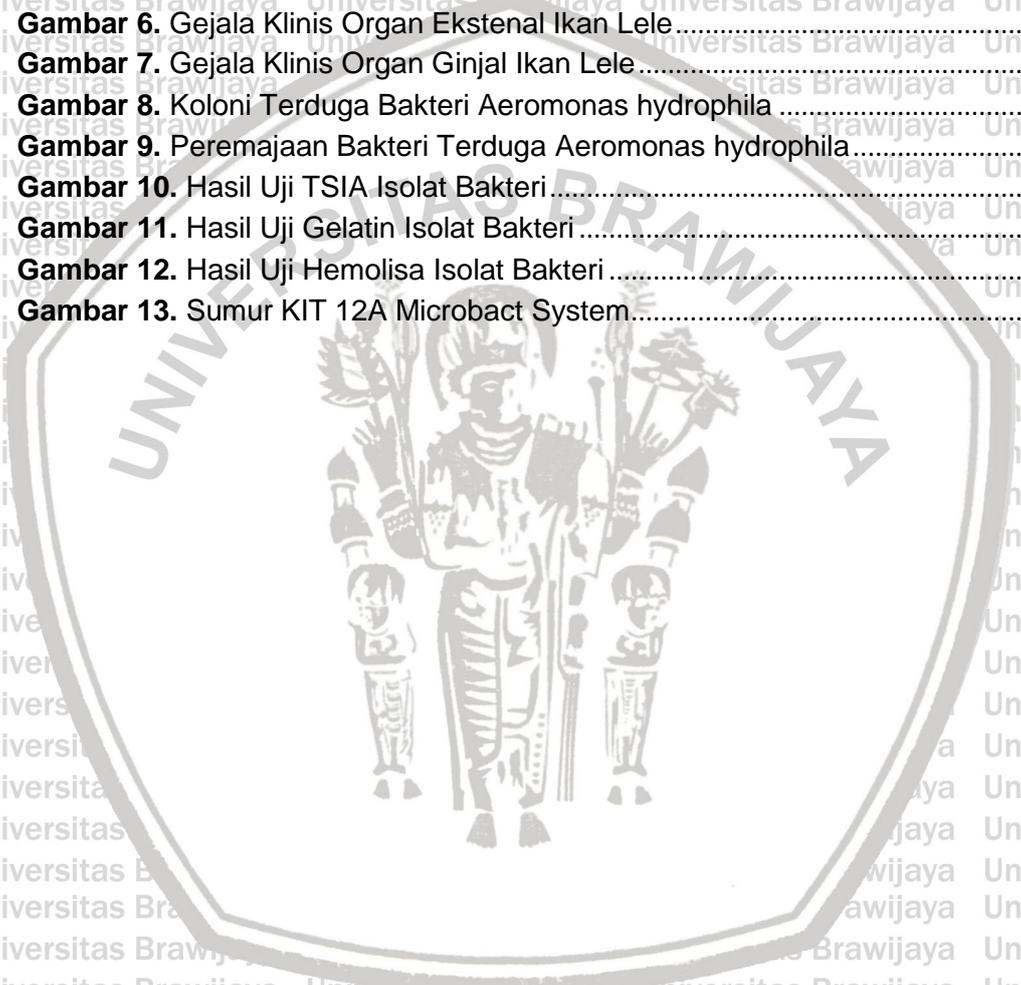
Gambar 9. Peremajaan Bakteri Terduga *Aeromonas hydrophila*..... 29

Gambar 10. Hasil Uji TSIA Isolat Bakteri..... 32

Gambar 11. Hasil Uji Gelatin Isolat Bakteri..... 33

Gambar 12. Hasil Uji Hemolisa Isolat Bakteri..... 34

Gambar 13. Sumur KIT 12A Microbact System..... 38



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Pembuatan Media RS.....	44
Lampiran 2. Pembuatan Media TSA.....	45
Lampiran 3. Pembuatan Media TSIA.....	46
Lampiran 4. Pembuatan Media Gelatin.....	47
Lampiran 5. Isolasi Bakteri dari Ikan Lele (kulit).....	48
Lampiran 6. Peremajaan bakteri.....	49
Lampiran 7. Pewarnaan Gram dan Pengamatan Morfologi.....	50
Lampiran 8. Uji TSIA.....	51
Lampiran 9. Uji Gelatin.....	52
Lampiran 10. Uji Hemolisis (BA).....	53
Lampiran 11. Uji Biokimia Metode Microbact.....	54
Lampiran 12. Dokumentasi Pembuatan Media Rhimler Shoot.....	55
Lampiran 13. Dokumentasi Pembuatan Media TSA.....	56
Lampiran 14. Dokumentasi Pembuatan Media TSIA.....	57
Lampiran 15. Dokumentasi Pembuatan Media Gelatin.....	58
Lampiran 16. Dokumentasi Isolasi Bakteri dari Ikan Lele.....	59
Lampiran 17. Dokumentasi Peremajaan Bakteri.....	60
Lampiran 18. Dokumentasi Uji Gelatin.....	61
Lampiran 19. Dokumentasi Uji TSIA.....	62
Lampiran 20. Dokumentasi Uji Hemolisis.....	63
Lampiran 21. Dokumentasi Pewarnaan Gram Bakteri.....	64
Lampiran 22. Dokumentasi Hasil Uji.....	65



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan lele *Clarias sp.* merupakan salah satu jenis ikan unggulan air tawar yang teknologi budidayanya sudah dikuasai dan memiliki permintaan pasar yang cukup tinggi. Seiring perkembangan teknologi budidaya, produksinya selalu diikuti dengan berbagai permasalahan yang muncul, yaitu mahalnnya harga pakan, kualitas lingkungan yang buruk, serta permasalahan penyakit. Penyakit yang biasa menyerang ikan lele adalah penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Menurut Thanikachalam *et al.* (2010), timbulnya penyakit terjadi karena kepadatan tinggi saat pemeliharaan, transportasi benih, penanganan, dan kualitas air yang buruk.

Penyakit MAS atau bercak merah disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri normal yang berada di perairan air tawar. Namun akibat perubahan kondisi lingkungan seperti perubahan temperatur menyebabkan bakteri menjadi patogen. Menurut Hossain *et al.* (2008), bahwa penyebaran penyakit dapat terjadi karena kontak langsung dengan ikan yang terinfeksi. Infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat menimbulkan penyakit dengan gejala diantaranya kulit mudah terkelupas, bercak merah pada seluruh tubuh, insang berwarna kebiruan atau pucat, exophthalmia (bola mata menonjol keluar), sirip punggung, sirip dada, sirip perut, dan sirip ekor terlepas, terjadinya pendarahan pada anus, dan hilang nafsu makan.

Kebersihan merupakan faktor yang harus diperhatikan selama proses budidaya dan penanganan ikan lele. *Aeromonas hydrophila* dapat melakukan penularan dengan berbagai perantara seperti melalui air, kontak dengan tubuh ikan yang terinfeksi dan dapat melalui peralatan budidaya yang terkontaminasi

bakteri tersebut (Kabata, 1995). Hal tersebut memperlihatkan kemudahan penularan bakteri *Aeromonas hydrophila* kepada ikan. Selain itu, bakteri yang berada pada ikan lele dapat menginfeksi manusia dan dapat membahayakan kesehatan manusia jika dalam jumlah yang tinggi.

Ikan atau bahan pangan yang terkontaminasi *Aeromonas hydrophila* dapat menularkan bakteri tersebut kepada manusia. Pengolahan dengan memasak produk secara menyeluruh dapat meminimalkan resiko penularan bakteri. Namun, berbagai bentuk pengolahan yang dilakukan terhadap produk tidak selalu dapat menghilangkan kontaminasi *Aeromonas hydrophila* (Igbinsola *et al.*, 2012). Bakteri tersebut dilaporkan mampu berkembang baik dalam ikan pada penyimpanan dengan suhu -2 hingga 10°C (Balbuena *et al.*, 2011). Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Granum *et al.*, (1998), terdapat 3 kasus penyakit akibat dari mengonsumsi ikan terfermentasi yang mengandung *Aeromonas hydrophila* sebesar 10^7 CFU/g. Pada umumnya, penyakit yang diakibatkan bakteri tersebut adalah gastroenteritis atau diare.

Sejauh ini belum terdapat data yang menyebutkan bahwa keamanan ikan lele konsumsi yang di jual di Pasar Dinoyo Malang yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* aman untuk dikonsumsi oleh manusia. Maka dari itu keamanan ikan lele konsumsi merupakan faktor penting yang harus diperhatikan, seiring meningkatnya konsumsi ikan lele dimasyarakat. Berdasarkan permasalahan tersebut perlu dilakukannya penelitian mengenai keamanan ikan lele dari infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* di Pasar Dinoyo Malang

1.2. Perumusan Masalah

Perumusan masalah dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui bagaimanakah keamanan ikan lele (*Clarias* sp.) konsumsi dari bakteri *Aeromonas hydrophila* yang dijual di Pasar Dinoyo Malang.

1.3. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui apakah terdapat ikan lele (*Clarias* sp.) konsumsi yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* yang dijual di Pasar Dinoyo Malang

1.4. Kegunaan

Pada penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai keamanan ikan lele (*Clarias* sp.) dari bakteri *Aeromonas hydrophila* yang dijual di Pasar Dinoyo Malang. Sehingga masyarakat dapat mengetahui dan memahami keamanan pangan, khususnya ikan lele dari infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Selain itu, penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi sumbangan informasi untuk pihak yang membutuhkan.

1.5. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari – Februari 2020 di Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perikanan Divisi Keamanan Hasil Perikanan dan Divisi Perekayasaan Hasil Perikanan, Universitas Brawijaya.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pasar Dinoyo

Pasar Dinoyo merupakan salah satu pasar tradisional di Malang yang mempunyai keterkaitan sejarah dengan perkembangan sosial ekonomi masyarakat Malang. Pasar Dinoyo didirikan pada tahun 1976 lokasi tepatnya di Jl. MT. Haryono 175 Kelurahan Dinoyo Kecamatan Lowokwaru Kota Malang. Masyarakat yang tinggal di sekitar Dinoyo lebih memanfaatkan pasar tradisional untuk memenuhi kebutuhan sehari-hari sehingga bisa dikatakan pasar dinoyo merupakan bagian penting minimal secara ekonomi bagi masyarakat. Kondisi saat ini pengusuran pasar dinoyo akan digantikan sebuah mall.

Pasar Dinoyo juga merupakan salah satu pasar tradisional di Kota Malang yang memiliki kontribusi pendapatan asli daerah yang cukup tinggi yaitu sebesar Rp. 341.255.700,- untuk tahun 2010. Sedangkan memiliki potensi sebesar Rp. 416.373.750,-. Peraturan Daerah Kota Malang Nomor 12 Tahun 2001 tentang Pengaturan Usaha dan Pemungutan Retribusi di Bidang Industri dan Perdagangan sebagaimana telah diubah dengan Peraturan Daerah Kota Malang Nomor 11 Tahun 2007 kemudian Peraturan Menteri Perdagangan Nomor 53/M-DAG/PER/12/2008 tentang Pedoman Penataan dan Pembinaan Pasar Tradisional, Pusat Perbelanjaan dan Toko Modern Luas Pasar Dinoyo yaitu 9.980 m², lokasi pasar terbagi dua bagian yaitu bagian Pasar Dinoyo Barat lantai I & II dan bagian Pasar Dinoyo Timur. Gambar lokasi pasar besar dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pasar Dinoyo Malang
(Sumber: Malang Times, 2020)

Jumlah pedagang sampai tahun 2011 berjumlah 719 pedagang yang terbagi menjadi tiga bagian yaitu, Gol A: 11 orang, Gol B: 320 orang dan Gol C: 549 orang, jumlah PKL 325 unit, jumlah mushola 2 unit, jumlah MCK 2 unit dan jumlah TPS 1 unit. Aktivitas Pasar Dinoyo Timur dimulai pukul 01.00-07.30 WIB.

Sedangkan untuk Pasar Dinoyo Barat lantai I & II dimulai pukul 01.00-13.00 WIB.

2.2 Ikan Lele (*Clarias sp.*)

Ikan lele merupakan ikan air tawar yang umumnya diketahui memiliki ciri tubuh tidak bersisik serta licin dan berbentuk pipih memanjang. Ikan lele memiliki sirip punggung dan sirip anus yang berukuran panjang hampir menyatu dengan sirip ekor. Kepala ikan lele memiliki bagian keras di atasnya dilengkapi mata berukuran kecil dan mulut yang cukup lebar. Disekitar mulut terdapat sungut yang digunakan sebagai sensor untuk mengalami lingkungan. Ikan Lele juga memiliki alat penapasan tambahan yang disebut arborescent. Pada kedua sirip dada lele terdapat sepasang duri (patil), berupa tulang berbentuk duri yang tajam. Patil ini digunakan untuk melindungi dirinya dari serangan atau ancaman luar yang membahayakan dirinya (Witjaksono, 2009). Keadaan Ikan Lele sehat dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 2. Ikan lele (*Clarias sp.*)
(Data Primer, 2020)

Ikan lele (*Clarias sp.*) mempunyai sirip dorsal sebanyak 68-79, sirip pectoral sebanyak 9-10, sirip ventral sebanyak 5-6, dan sirip anal sebanyak 50-60. Selain itu, ikan lele mempunyai sungut sebanyak 4 pasang. Sirip pectoral pada ikan lele dilengkapi duri tajam dan patil yang memiliki panjang maksimum 400 mm terutama pada ikan dewasa. Gigi ikan lele berbentuk viliform dan posisinya berdekatan atau menempel pada bagian rahang (Rahardjo dan Muniarti, 1984).

Menurut Afifi (2014), mata ikan lele dumbo (*Clarias sp.*) berbentuk bulat dan terletak di dorsolateral again kepala. Ikan lele memiliki jumlah sirip punggung 68 – 79, sirip dada 9 – 10, sirip perut 5 – 6, sirip ana; 50 – 60 dan sungut (barbel) sebanyak 4 pasang, 1 pasang diantaranya memiliki ukuran yang lebih besar dan panjang. Berikut morfologi ikan lele terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 3



Gambar 3. Morfologi Ikan Lele Terinfeksi
Aeromonas hydrophila
(Sumber: Data Primer, 2020)

Protein yang terdapat dalam ikan merupakan protein yang amat penting dan istimewa karena bukan hanya berfungsi sebagai penambah jumlah protein konsumsi tetapi juga sebagai pelengkap mutu protein dalam pola makan. Ikan lele selain mengandung gizi yang penting seperti protein juga mengandung asam amino esensial.

Menurut Handayani dan Kartikawati (2015), kandungan protein ikan lele (*Clarias sp*) tergolong tinggi yaitu 17,09%. Komposisi gizi ikan lele kandungan air 75,10%, protein 18,79%, lemak 4,03%, dan mineral 2,08%. Komposisi nilai gizi pada ikan lele (*Clarias sp*) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kandungan Gizi Ikan Lele

No	Komposisi	Presentase(%b/b)
1.	Protein	17,09 ± 0,52
2.	Lemak	2,75 ± 0,23
3.	Karbohidrat	0,86 ± 0,32
4.	Kadar Air	78,05 ± 0,27
5.	Kadar Abu	1,25 ± 0,50

Menurut Venugoval (2008) ikan yang tergolong berlemak rendah, jika kadar lemaknya kurang dari 3%, berlemak sedang memiliki kadar lemak 3-5% dan berlemak tinggi mempunyai kadar lemak lebih dari 7%. Ikan lele dumbo termasuk ikan yang berlemak sedang dan kandungan proteinnya tinggi sehingga cocok diproses menjadi KPI.

2.3 Deskripsi dan Klasifikasi *Aeromonas hydrophila*

Menurut Rezeki et al., (2016) aeromonas merupakan bakteri yang berasal dari lingkungan perairan dan dapat menyebabkan berbagai penyakit pada ikan. *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri Gram negatif yang bersifat patogen. Bakteri ini menginfeksi ikan lele dan menyebabkan penyakit penyakit bercak merah. Gejala yang ditimbulkan oleh penyakit ini seperti kehilangan nafsu makan, luka pada permukaan tubuh, pendarahan pada insang, perut membesar



berisi cairan, pembengkakan dan kerusakan pada jaringan hati, ginjal dan limfa.

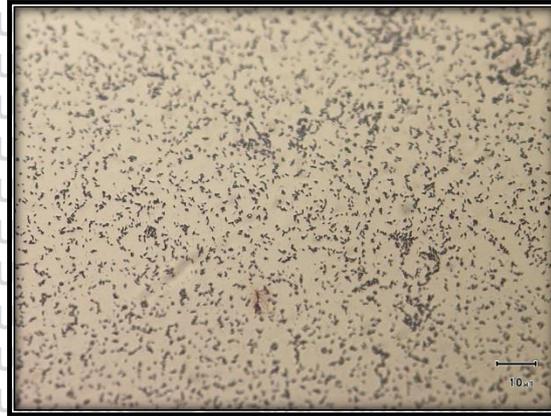
Infeksi bakteri ini menyebabkan masalah yang serius bagi petani ikan. Dampak penyakit tersebut dapat menurunkan kualitas daging dan menimbulkan kerugian ekonomi. Adapun Klasifikasi *Aeromonas hydrophila* menurut Holt *et al.*, (1994) adalah sebagai berikut:

Filum : *Protophyta*
Kelas : *Schizomycetes*
Ordo : *Pseudanxonadeles*
Family : *Vibrionaceae*
Genus : *Aeromonas*
Spesies: *Aeromonas hydrophila*

2.4 Morfologi *Aeromonas hydrophila*

Aeromonas hydrophila merupakan bakteri heterotrofik uniseluler, tergolong protista prokariot yang dicirikan dengan tidak adanya membrane yang memisahkan inti dengan sitoplasma. Bakteri ini biasanya berukuran 0,7 – 1,8 x 1,0 – 1,5 µm dan bergerak menggunakan flagel tunggal. Bakteri ini berbentuk batang sampai dengan kokus dengan ujung membulat, fakultatif anaerob, dan bersifat mesofilik dengan suhu optimum 20 – 30°C (Haryani, *et al.*, 2012).

Aeromonas hydrophila yang diisolasikan pada agar akan membentuk koloni berwarna putih sampai kuning tua. Selain itu, koloninya berbentuk bulat namun secara morfologi berbentuk batang pendek dengan ukuran bervariasi (lebar: 0,8-1,0 mikron; panjang: 1,0-3,5 mikron), dan bersifat motil. Morfologi koloni permukaannya agak menonjol, mengilat, krem dengan tepian entire serta berdiameter 2—3 mm (Arwin *et al.*, 2016). Bentuk bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. *Aeromonas hydrophila*
(Sumber: Data Primer, 2020)

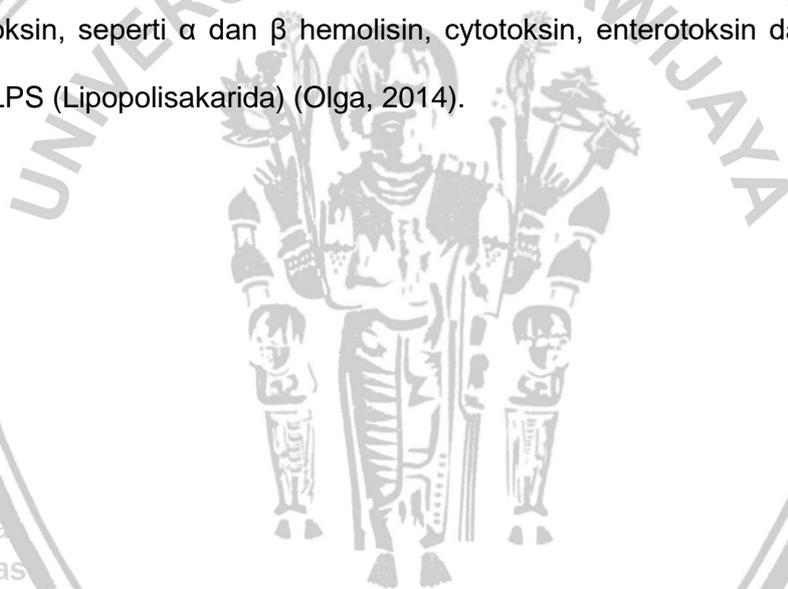
2.5 Lingkungan dan Penyebaran *Aeromonas hydrophila*

Aeromonas hydrophila adalah bakteri yang biasanya dapat ditemukan di perairan tawar. Bakteri tersebut umumnya dapat bertahan dalam lingkungan aerob maupun anaerob. Selain itu, bakteri ini resisten terhadap senyawa kimia *chlorine* dan juga suhu dingin yang mencapai 4°C (Krieg dan Holt, 1984). Kemampuan *Aeromonas hydrophila* untuk tumbuh pada rentang suhu dan kadar oksigen yang luas menyebabkan *A. hydrophila* ini menjadi salah satu bakteri yang paling sering ditemukan pada perairan dan menyebabkan sakit pada berbagai jenis ikan budidaya.

Penularan bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat melalui berbagai perantara. Penyebaran bakteri tersebut dapat terjadi dengan cepat melalui air, kontak bagian tubuh ikan hingga dapat menular melalui peralatan budidaya yang digunakan terkontaminasi bakteri. Bakteri ini dapat menyebar secara cepat dengan padat penebaran yang tinggi hingga akhirnya dapat menyebabkan kematian mencapai 100% (Kabata, 1985).

2.6. Patogenitas *Aeromonas hydrophila*

Kemampuan *Aeromonas hydrophila* dalam menimbulkan penyakit cukup tinggi. Patogenisitas yang ditunjukkan dengan LD50 cukup bervariasi, yaitu berkisar antara 10⁴ - 10⁶ sel/ml. Bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat ditemukan dimanamana, terutama di perairan yang mengandung bahan organik tinggi. Disamping itu, bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 4 °C - 45°C, meskipun lambat dan tumbuh optimum pada suhu 37°C. Bakteri *Aeromonas hydrophila* menghasilkan bermacam-macam enzim, seperti gelatinase, caseinase, elastase, lipase, lecithinase, staphylolyase, deoxyribonuclease dan ribonuclease. Selain itu, *Aeromonas hydrophila* menghasilkan bermacam-macam toksin antara lain eksotoksin, seperti α dan β hemolisin, cytotoksin, enterotoksin dan endotoksin, yaitu LPS (Lipopolisakarida) (Olga, 2014).



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi beaker glass, gelas objek, cover glass, cawan petri, rak tabung, tabung reaksi, ose loop, erlenmeyer, beaker glass, pipet tetes, mikroskop cahaya binokuler, *Laminary Air Flow* (LAF) merk Biobase, bunsen, gelas ukur, spatula, timbangan digital, timbangan analitik ketelitian 10-3 merk Radweg AS220, oven merk Memmert, inkubator merk Memmert, *showcase* merk Polytron, autoklaf manual, kompor, *crushable tang*, mortal, alu, aquarium, aerator, pisau, telenan, baskom, nampan, selang, *section set*, *sectio set*, *washing bottle*, corong.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ikan lele (*Clarias sp.*), media TSA (*Tryptone Soya Agar*), media RS (Rhimler Shoots), media gelatin, *Blood Agar*, media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), violet ungu, iodin, alkohol 70%, safranin, aquades, kapas, alumunium foil, plastik wrap, spiritus, klorin, kertas label, tissue, sarung tangan lateks, masker, karet gelang, kertas bekas, plastik klip.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian keamanan ikan lele (*Clarias sp.*) konsumsi dari bakteri *aeromonas hydrophila* yang dijual di Pasar Dinoyo, Kota Malang adalah metode deskriptif yang bersifat studi kasus. Studi kasus mempelajari objek secara mendalam pada waktu, tempat, dan populasi yang terbatas, sehingga memberikan gambaran tentang situasi dan kondisi secara lokal dan hasilnya tidak berlaku untuk tempat dan waktu yang berbeda (Sari *et al.*, 2014).

3.3 Teknik Pengambilan Sampel

Metode sampling yang digunakan adalah menggunakan metode purposive sampling. Menurut Purwanto dan Sulistyastuti (2007), *purposive sampling* adalah pengambilan sampel berdasarkan keperluan penelitian, artinya teknik pengambilan sampel yang dilakukan secara sengaja dengan pertimbangan tertentu oleh peneliti. Pengambilan sampel dilakukan secara selektif terhadap ikan yang menunjukkan gejala serangan *Aeromonas* sesuai Austin dan Austin (1987). Sampel diambil berdasarkan adanya gejala berupa luka seperti borok pada kulit, luka kemerahan pada mulut, mata menonjol dan perut membengkak.

Menurut Rezeki et al (2016), pengambilan sampel dilakukan secara acak melalui berbagai pasar dan diambil 3 pedagang ikan lele (*Clarias sp*) yang berbeda. Pengambilan sampel dilakukan secara selektif terhadap ikan yang menunjukkan gejala serangan *Aeromonas hydrophila*. Sampel yang memiliki ciri-ciri gejala eksternal terinfeksi *aeromonas* yaitu muncul luka seperti borok merah pada bagian kulit, perut membengkak dan sirip geripis. Gejala internal menunjukkan warna ginjal berubah menjadi lebih gelap

3.4 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dilakukan dengan tujuan mengetahui deteksi mikroba pada ikan lele (*Clarias sp.*) dalam satu tahap, yakni penelitian utama. Persiapan penelitian utama meliputi pengamatan gejala klinis dan pengambilan sampel di Pasar Dinoyo Malang, kemudian dilakukan isolasi bakteri dari ikan lele ke media RS, peremajaan bakteri *Aeromonas hydrophila* dari media RS ke media TSA, dan dilakukan pengujian *presumptive* meliputi pewarnaan gram serta melakukan pengujian *determinative* yaitu uji biokimia untuk mempertegas ciri-ciri bakteri *Aeromonas hydrophila*.

3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Tahap awal yang perlu dilakukan sebelum memulai proses kerja di laboratorium ialah sterilisasi alat dan bahan. Proses sterilisasi pada penelitian ini menggunakan dua macam sterilisasi, yakni sterilisasi basah dan sterilisasi kering. Sterilisasi basah menggunakan autoklaf manual bersuhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sterilisasi basah digunakan untuk alat-alat setelah dan sebelum pemakaian serta untuk pembuatan media. Sedangkan sterilisasi kering menggunakan oven merk Memmert dengan suhu bervariasi yang dapat diatur sesuai tujuan penggunaan. Sterilisasi kering digunakan untuk alat-alat yang telah melalui proses sterilisasi basah. Sterilisasi bertujuan untuk membebaskan alat dan bahan dari mikroba yang mempengaruhi keberhasilan penelitian. Adapun sterilisasi kering menurut Andriani (2016) yaitu menggunakan oven dengan suhu 160 - 170°C selama 1 - 2 jam. Sterilisasi panas kering pada temperatur lebih dari 160°C efektif menghancurkan mikroorganisme hidup dengan sebuah proses kehilangan kelembaban pada alat. Sterilisasi panas kering (oven) biasa digunakan untuk alat-alat gelas atau kaca (cawan petri dan tabung reaksi) dan bahan-bahan lain yang memiliki kemampuan bertahan pada suhu yang digunakan.

3.4.2 Pembuatan Media RS

Media RS (Rimler Shotts-Medium) digunakan sebagai media uji kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila* secara selektif. Media RS merupakan media padat. Berdasarkan petunjuk penggunaan pada kemasan produk media RS di laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, bahan dasar yang digunakan adalah RS sebanyak 45 gram untuk penggunaan akuades sebanyak 1000 ml didalam Erlenmeyer. Kemudian timbang media *Rimler-shotts* sebanyak 0,91 gram dan larutkan dengan 20 ml aquades didalam erlenmeyer serta ditutup

dengan kapas dan alumunium foil. Setelah itu, dilakukan perebusan media selama 15 menit. Setelah perebusan tersebut media didiamkan hingga hangat.

Hal ini dilakukan agar saat penuangan media *Rimler-shoots* kedalam cawan petri tidak menimbulkan uap yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. kemudian dilakukan penuangan media ke dalam cawan petri di dalam LAF dengan bunsen menyala dan tunggu hingga membentuk gel. Setelah itu, cawan petri yang berisi media *Rimler-shoots* yang sudah menjadi gel ditutup menggunakan kapas dan plastik *wrap*. Lalu simpan di dalam LAF dengan suhu ruang (27°C) selama 24 jam, selanjutnya dimasukkan ke dalam lemari pendingin. Menurut Hamny, et al. (2019), *Aeromonas hydrophila* yang tumbuh pada goresan T-streach media RS adalah koloni dengan karakteristik berwarna kuning tanpa titik hitam di tengahnya. Diagram alir pembuatan media *Rimler-shoots* (RS) dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.4.3 Pembuatan Media TSA

Media TSA (*Tryptic Soy Agar*) merupakan media untuk peremajaan bakteri *Aeromonas hydrophila* yang didapat dari kultur murni. Berdasarkan petunjuk penggunaan pada kemasan produk media TSA di laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, bahan dasar yang digunakan adalah TSA sebanyak 40 gram untuk penggunaan akuades 1000 ml. Bahan dasar TSA berbentuk serbuk yang berwarna kuning apabila telah larut dalam akuades. Media TSA merupakan media yang berbentuk solid. Selanjutnya sebanyak 0,8 gram serbuk TSA dilarutkan dalam 20 ml akuades di erlenmeyer, ditutup alumunium foil dan kapas. Kemudian media direbus untuk mengaktifkan agar selama 15 menit. Selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf. Setelah itu media TSA didiamkan hingga hangat. Hal tersebut dilakukan agar saat penuangan TSA kedalam cawan petri tidak menimbulkan uap yang dapat menghambat

pertumbuhan bakteri. Kemudian dilakukan penuangan media ke dalam cawan petri di dalam LAF dengan bunsen menyala dan tunggu hingga membentuk gel.

Setelah itu, cawan petri yang berisi media TSA yang sudah menjadi gel ditutup menggunakan kapas dan plastik *wrap*. Lalu simpan di dalam LAF dengan suhu ruang (27°C) selama 24 jam, selanjutnya dimasukkan ke dalam lemari pendingin.

Menurut Yusriana *et al.* (2014), peremajaan bakteri merupakan suatu cara untuk merawat bakteri agar tetap memiliki nutrisi yang baik. Peremajaan dilakukan pada media TSA dalam media miring dengan metode gores dan diinkubasi selama 24 jam. Cara ini juga merupakan cara yang paling tradisional untuk menyimpan koleksi mikroba yang belum diketahui cara penyimpanan jangka panjangnya. Banyak bakteri yang dapat bertahan hidup dalam tabung miring hingga sepuluh tahun atau lebih baik di suhu ruang maupun kulkas (Machmud, 2001). Diagram alir pembuatan TSA dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.4.4 Pembuatan Media TSIA

Media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) merupakan media solid berbentuk serbuk dan berwarna merah apabila telah larut dalam aquades. Pembuatan media TSIA dilakukan sesuai petunjuk yang terdapat dikemasan, 40 gram media TSIA dilarutkan dalam 1000 ml aquades. Selanjutnya timbang media TSIA sebanyak 0,8 gram dan larutkan dengan 20 ml aquades didalam erlenmeyer serta ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Setelah itu, dilakukan perebusan media selama 15 menit untuk mengaktifkan agar. Media yang telah melalui perebusan kemudian disterilisasi basah menggunakan autoklaf. Selanjutnya media TSIA didiamkan hingga hangat. Hal tersebut dilakukan agar saat penuangan media TSIA kedalam cawan petri tidak menimbulkan uap yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. kemudian dilakukan penuangan media ke dalam tabung reaksi dalam LAF dengan bunsen menyala dan miringkan tabung

sehingga terbentuk TSIA miring menjadi gel. Setelah itu, tabung reaksi yang berisi media TSIA yang sudah menjadi gel ditutup menggunakan kapas dan plastic wrap. Lalu simpan di dalam LAF dengan suhu ruang (27°C) selama 24 jam, lalu dimasukkan ke dalam lemari pendingin.

Media TSIA ditimbang sebanyak 6,6 gram lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Lalu ditambahkan 100 ml akuades ke dalam erlemeyer dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* sambil dipanaskan di atas *hot plate* hingga mendidih. Selanjutnya media disterilkan dengan autoklaf. Setelah itu masukan media steril sebanyak 5 ml kedalam tabung reaksi dan dibiarkan pada posisi miring selama 24 jam. Kemudian media dimasukkan ke dalam lemari pendingin (Anggraini *et al.*, 2016). Diagram alir pembuatan TSIA dapat dilihat pada Lampiran 3.

3.4.5 Pembuatan Media Gelatin

Media gelatin merupakan media semi solid yang berbentuk serbuk berwarna kuning apabila larut didalam aquades. Pembuatan media Gelatin dilakukan sesuai petunjuk yang terdapat dikemasan, 40 gram media Gelatin dilarutkan dalam 1000 ml aquades. Selanjutnya timbang media Gelatin sebanyak 0,8 gram dan larutkan dengan 20 ml aquades didalam erlenmeyer serta ditutup dengan kapas dan alumunium foil. kemudian dilakukan perebusan media selama 15 menit untuk mengaktifkan agar. Media yang telah melalui perebusan kemudian disterilisasi basah menggunakan autoklaf. Setelah itu media Gelatin didiamkan hingga hangat. Hal ini dilakukan agar saat penuangan media Gelatin kedalam cawan petri tidak menimbulkan uap yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Selanjutnya dilakukan penuangan media ke dalam tabung reaksi dalam LAF dengan bunsen menyala dan miringkan tabung sehingga terbentuk Gelatin miring menjadi gel. Setelah itu, tabung reaksi yang berisi media

Gelatin yang sudah menjadi gel ditutup menggunakan kapas dan plastic wrap.

Lalu simpan di dalam LAF dengan suhu ruang (27°C) selama 24 jam. Diagram

alir pembuatan Gelatin dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.4.6 Preparasi Sampel

Pada tahap prepsrasi sampel dilakukan yaitu ikan lele yang telah diamati morfologi dan gejala klinis serta menunjukkan gejala terinfeksi bakteri

Aeromonas hydrophila dibersihkan permukaan tubuh lele menggunakan kapas yang telah dibasahi dengan alcohol 70%. Kemudian bedah ikan lele tersebut menggunakan mata pisau steril. Lalu ambil organ target ginjal dan sterilkan permukaannya setelah itu siap dilakukan isolasi. Isolasi dapat juga dilakukan dari permukaan tubuh yang luka (kulit) atau sediaan darah. Preparasi sampel ikan lele dilakukan sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI. 7303:2009).

3.4.7 Isolasi Bakteri dari Ikan Lele (*Clarias sp*)

Isolasi bakteri dilakukan sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI. 7303:2009). Tahap awal yang dilakukan yaitu, membersihkan meja yang akan dijadikan tempat alas isolasi bakteri dengan alkohol 70%. Setelah itu tusuk organ target yaitu ginjal dengan menggunakan jarum ose steril yang telah difiksasi secara aseptis, kemudian goreskan ke media *Rhimler-shoots* dengan metode streak. Selain organ target ginjal, lakukan isolasi pada bagian tubuh atau kulit ikan yang terluka dengan cara yang sama. Selanjutnya, inkubasi pada suhu 30°C selama 18 - 24 jam.

Isolasi bakteri dilakukan didalam laboratorium dengan api bunsen menyala untuk menciptakan kondisi yang aseptik, menghindari kontaminasi dari lingkungan sekitar, dan mencegah terjadinya infeksi bakteri patogen terhadap peneliti. Isolasi bakteri adalah proses pemisahan atau pemindahan bakteri dari organ target atau bagian tubuh ikan tertentu dan menumbuhkannya pada media

buatan, sehingga diperoleh kultur murni serta dapat mempelajari sifat biakan morfologi dan sifat mikroba lainnya (Puspitasari *et al.*, 2012). Diagram alir isolasi bakteri dari ikan lele dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.4.8 Inokulasi dan Peremajaan Bakteri Terduga *Aeromonas hydrophila*

Prinsip inokulasi yaitu menumbuhkan mikroba pada suatu medium. Sumber inokulasi dapat berasal dari biakan murni maupun hasil isolasi kultur campuran. Inokulasi dilakukan di dalam *Laminary Air Flow* (LAF) dengan kondisi aseptis. Proses inokulasi harus dilakukan secara hati-hati dan aseptis agar tidak terjadinya kontaminasi dari lingkungan sekitar, terutama kontaminan yang berasal dari udara. Pertama, pijarkan atau fiksasi jarum ose diatas api bunsen sebelum pengambilan bakteri dan dinginkan pada pinggir media. Selanjutnya ambil satu koloni terpisah dan goreskan menggunakan metode 4 kuadran pada media TSA. Setelah itu, inokulat hasil dari proses inokulasi disimpan dalam incubator dengan suhu 30°C selama 24 jam. Diagram alir proses inokulasi bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat dilihat pada Lampiran 6.

Peremajaan bakteri bertujuan agar bakteri memulai metabolisme kembali setelah penyiapan. Peremajaan bakteri menurut Machmud (2001), merupakan cara paling tradisional yang digunakan peneliti untuk memelihara dan menyimpan koleksi isolat mikroba di laboratorium dan digunakan untuk memelihara isolate mikroba yang belum diketahui cara penyimpanan jangka panjangnya. Peremajaan bakteri dilakukan dengan mengambil satu jarum ose biakan murni kemudian digoreskan dalam biakan agar dengan permukaan miring, kemudian diinkubasi selama 24 jam.

3.4.9 Uji Biokimia

Pengujian biokimia *Aeromonas hydrophila* terdiri dari uji *presumtif* (uji pendugaan) dan uji *determinatif* (penegasan). Uji *presumtif* meliputi uji

pewarnaan gram, uji katalase, dan uji oksidase, sedangkan uji determinative meliputi uji TSIA, LIA (*Lysine decarboxylase*), uji *motility*, uji produksi indol, uji oksidatif/fermentatif, uji gelatin, uji MR-VP, uji urea, uji sitrat, dan uji gua-gula.

- **Pewarnaan Gram dan Pengamatan Morfologi bakteri**

Pewarnaan gram merupakan salah satu metode untuk mengetahui morfologi bakteri, yang bermanfaat mengetahui apakah biakan bakteri masuk dalam golongan gram positif atau gram negatif (Samsundari, 2006). Prosedur pengujian gram negatif menurut SNI (2005), siapkan gelas objek yang telah dibersihkan dari lemak dengan alkohol 70 %. Kemudian beri 1 tetes akuades steril pada permukaan gelas objek. Lalu ambil isolat dengan ose steril, campur dengan akuades dan diulas merata pada permukaan gelas objek. Kemudian fiksasikan dengan melewati preparat diatas api 15 cm beberapa kali sampai terlihat kering. Lalu teteskan kristal violet pada preparat sampai merata dan diamkan selama 2 menit dan cuci dengan air mengalir. Setelah itu teteskan larutan iodine pada preparat sampai merata dan diamkan selama 1½ menit. Kemudian di cuci dengan akuades mengalir. Dekolorisasi (penghilangan warna) dilakukan setelahnya, menggunakan alkohol 70% dengan cara spray. Preparat kemudian dicuci kembali dengan akuades dan dilakukan pewarnaan sekunder menggunakan safranin selama 1 menit. Setelah itu cuci preparat dengan air mengalir dan keringkan. Setelah itu amati preparat menggunakan mikroskop dan sifat bakteri gram negatif ditandai dengan sel bakteri berwarna merah, bentuk batang pendek. Adapun skema pewarnaan gram dapat dilihat pada Lampiran 7.

• Uji TSIA

Uji TSIA menggunakan pengujian H₂S yang memiliki tujuan untuk mengetahui adanya produksi gas hidrogen sulphid dari sulfur yang mengandung asam-asam amino melalui aktifitas enzim. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya warna hitam dari keseluruhan sampel (Tantu, 2013). Uji deteksi H₂S menurut Anggraini *et al.* (2016), dilakukan dengan mengambil satu ose isolat bakteri, kemudian diinokulasi ke dalam media dengan goresan zig-zag pada bagian miring dan ditusukkan pada bagian dasar. Media diinkubasi pada suhu 28°C selama 18-24 jam. Uji positif ditandai dengan perubahan warna media menjadi pink dan uji negatif ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna pada media. Adapun skema kerja pembuatan media TSIA pada Lampiran 8.

Adapun prosedur pengujian TSIA adalah sebagai berikut. Pertama-tama disiapkan media TSIA. Diambil isolat bakteri dengan jarum ose steril dari media TSA dan diinokulasi pada media TSIA dengan teknik *butt* (tusuk) terlebih dahulu lalu dilanjutkan dengan teknik *slant* (gores). Kemudian diinkubasi pada incubator dengan suhu 30°C selama 24 jam dan diamati perubahan warna.

Adapun diagram alir uji TSIA bakteri *Aeromonas hydrophila* disajikan pada Lampiran. Berdasarkan KIPM (2018), pembacaan hasil pengujian pada media TSIA yaitu A/A (fermentasi glukosa dan laktosa) dan A/K (fermentasi laktosa atau fruktosa) adalah sebagai berikut:

- Pembacaan A/A (reaksi Asam/Asam), jika media bagian *slant* (miring) dan *butt* (tegak) berwarna kuning.
- Pembacaan A/K (reaksi Asam/Alkalin), jika media bagian *slant* (miring) berwarna kuning dan *butt* (tegak) tetap berwarna merah orange, begitupula sebaliknya.

- Pembacaan K/K (reaksi Alkalin/Alkalin), jika media bagian *slant* (miring) dan *butt* (tegak) tetap berwarna merah orange.

- Adanya H₂S ditandai dengan adanya endapan warna hitam pada media.

- Adanya reaksi gas ditandai dengan media yang pecah-pecah atau terangkat ke atas.

• Uji Hidrolisa Gelatin

Uji gelatin dilakukan dengan cara sampel bakteri diambil dengan menggunakan ose bulat dan ditusukkan pada medium nutrient gelatin (agar tegak) dan dinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah dilakukan inkubasi, medium diletakkan kedalam kulkas selama 15 menit. Kemudian diamati perubahan yang terjadi. Apabila medium menjadi padat maka bakteri tidak mampu menghidrolisis gelatin (SNI, 2011). Adapun diagram alir uji gelatin bakterio *Aeromonas hydrophila* disajikan pada Lampiran 9.

Pengujian gelatin bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim gelatinase yang mampu menghidrolisis gelatin. Struktur utama gelatin yaitu gel, sedangkan gelatin yang telah dicerna secara sempurna oleh bakteri tidak dapat membentuk gel dan bersifat cair. Menurut Lubis *et al.* (2013) Uji gelatin dapat juga digunakan untuk mendeteksi aktivitas proteolitik pada bakteri. Adapun media gelatin yang digunakan didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas 24 Kedokteran Universitas Brawijaya berupa media siap pakai.

• Uji Hemolisin

Uji hemolisin dilakukan dengan metode gores, yakni mengambil satu ose biakan bakteri dari media TSA dengan ose steril dan diinokulasikan pada media *blood agar*. Kemudian inkubasi media pada suhu 30°C selama 24 jam.

Setelah proses inkubasi selesai, lakukan pengamatan terhadap perubahan warna yang terjadi pada goresan. Uji hemolisin dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam melakukan hemolisis, yaitu menggunakan darah sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhannya.

Sampel ditanam pada agar darah untuk pengujian α -hemolisin dan β -hemolisin dengan cara inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Biakan strain bakteri sebanyak satu ose didepositkan pada permukaan media agar darah dengan menggoreskan dari satu sisi plat ke sisi lainnya membentuk garis lurus (Lindawati dan Suardana, 2016). Zona atau halo yang terbentuk pada media agar dari inokulat akan menandakan warna kuning-bening setelah inkubasi 96 jam yang menandakan inokulat dapat melisis sel-sel darah merah dalam waktu yang lama untuk hemolisis sempurna. Apabila warna hijau yang terbentuk menunjukkan α -hemolisis atau hemolisis terjadi tidak sempurna (Mangunwardoyo, *et al.*, 2009). Adapun diagram alir uji hemolisin bakteri dugaan *Aeromonas hydrophila* disajikan dalam Lampiran 10.

• *Microbact System*

Ada pun prosedur sebelum menggunakan metode *microbact system* dengan melakukan uji oksidase terhadap bakteri. Langkah awal yang dilakukan untuk menentukan kit yang akan digunakan yaitu 12A, 12E atau 24 E. jika pengujian menggunakan *microbact system* 12A atau 12E akan menghasilkan oksidase negatif, sedangkan jika pengujian menggunakan 24E akan menghasilkan oksidase positif. Satu koloni bakteri diinkubasi selama 18 – 24 jam diambil dengan menggunakan ose. Setelah itu dilarutkan kedalam 5 ml bakteri

yang telah diinkubasi selama 18-24 jam diambil dengan menggunakan ose kemudian dilarutkan kedalam 5 ml garam fisiologis 0,9% pada tabung reaksi streil lalu homogen. Kemudian larutan bakteri yang telah homogen diteteskan kedalam sumur *Microbact* sebanyak 100 UI atau setara dengan 4 tetes. Pada sumur Lysin, Omitin dan H₂S ditambahkan 1 sampai 2 tetes *mineral oil*. Setelah itu dimasukan kedalam *microbact* untuk diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 samapi 24 jam. Selanjutnya tambahkan *reagent* nitrat A dan B sebanyak 2 tetes pada sumur nomor 7, tambahkan *indol kovact* sebanyak 2 tetes pada sumur nomer 8, tambahkan VP I dan II sebanyak 1 tetes pada sumur nomer 10, dan tambahkan TDA sebanyak 1 tetes pada sumur nomer 12. Selain itu untuk pengujian fermentasi karbohidrat pada sumur *microbact* 12B. Jika fermentasi positif menunjukkan warna kuning, sedangkan hasil negatif tidak ada perubahan warna tetap biru. Selain itu, dapat dilihat hasil lainnya positif atau negatif dengan membandingkannya pada table warna.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pedagang Lele di Pasar Dinoyo

Pada pasar dinoyo pedagang yang menjual ikan lele (*Clarias sp.*) berjumlah 3 orang. Supplier ikan lele para pedagang berasal dari tempat yang berbeda-beda. Pada pedagang A, supplier ikan lele berasal dari Kota Blitar. Pada pedagang B, supplier ikan lele berasal dari Tuban. Sedangkan pada pedagang C, supplier ikan lele berasal dari Sidoarjo. Harga ikan lele yang dijual di Pasar Dinoyo bervariasi dengan harga Rp. 16.000-20.000 per Kg. Lingkungan tempat jualan pedagang ikan lele pada umumnya terlihat cukup bersih. Adapun gambaran lingkungan para pedagang dapat dilihat pada Gambar 5.



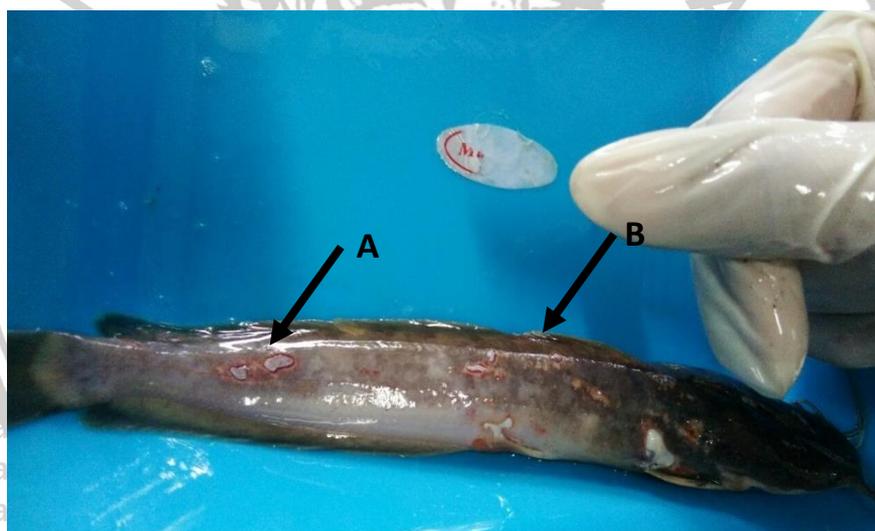
Gambar 5. Kondisi Lingkungan Pedagang Ikan Lele
Keterangan: A; Pedagang A; B: Pedagang B; C: Pedagang C
(Sumber: Data Primer, 2020)

Pada pedagang A ikan lele diletakkan didalam drum yang terbuat dari plastik dan box dengan intensitas ikan banyak dan bertumpuk. Pada pedagang B ikan lele diletakkan diatas keramik dengan intensitas ikan banyak. Sedangkan pada pedagang B dan C ikan lele diletakkan pada wadah kolam dengan intensitas banyak, bertumpuk-tumpuk. Kondisi lingkungan pedagang A cenderung tidak bersih dan sehat dibandingkan dengan pedagang B dan C. Kondisi lingkungan dimana ikan lele diletakkan dapat mempengaruhi kondisi ikan lele.

Menurut Suwarno *et.al.*, (2014) yang menyatakan bahwa tempat penyimpanan ikan lele jika sempitnya ruang gerak ikan lele akan menimbulkan persaingan dalam mendapatkan oksigen dan dapat mengakibatkan ikan tersebut menjadi stress. Ikan yang mengalami stress akan lebih mudah untuk terinfeksi oleh bakteri.

4.2 Pengamatan Gejala Klinis Ikan Lele

Ikan lele (*Clarias sp.*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* memiliki beberapa gejala klinis pada organ eksternal maupun internal. Hasil pengamatan yang dilakukan terhadap ikan lele yang dijual di Pasar Dinoyo, Kota Malang memiliki beberapa gejala klinis. Adapun gejala klinis pada organ eksternal ikan lele dapat dilihat pada Gambar 6.



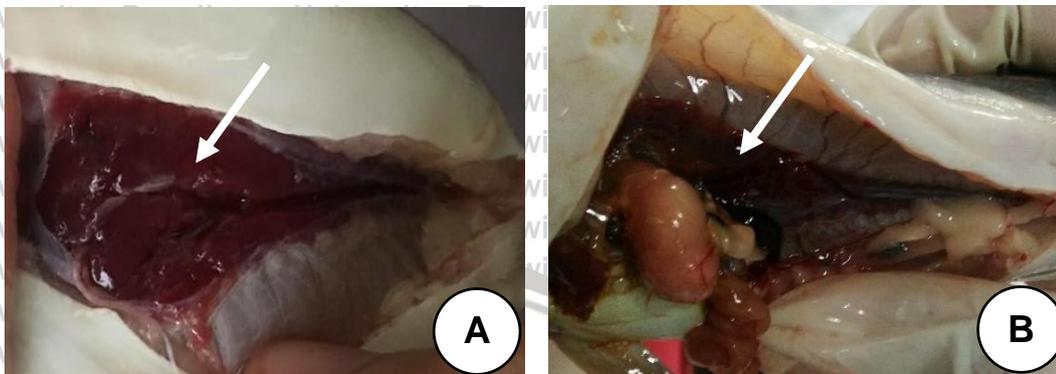
Gambar 6. Gejala Klinis Organ Eksternal Ikan Lele

Keterangan: A: Luka Kemerahan; B: Sirip Geripis

(Sumber: Data Primer, 2020)

Sampel ikan lele yang diperoleh dari pedagang di Pasar Dinoyo memiliki gejala klinis pada organ eksternal. Menurut Rezeki *et al* (2016), ciri-ciri gejala eksternal terinfeksi aeromonas yaitu muncul luka seperti borok merah pada bagian kulit, perut membesar dan sirip geripis. Gejala internal

menunjukkan warna ginjal berubah menjadi lebih gelap. Adapun gejala klinis pada organ internal ikan lele dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Gejala Klinis Organ Ginjal Ikan Lele
 Keterangan: A: Ginjal ikan tanpa gejala klinis organ eksternal (merah); B: Ginjal ikan dengan gejala klinis organ eksternal (merah kehitaman)
 (Sumber: Data Primer, 2020)

Ikan lele yang dijual dari 3 pedagang di Pasar Dinoyo memiliki beberapa ikan yang mengalami gejala klinis pada organ eksternal dan internal. Menurut Asniatih *et al.* (2013), pada organ internal ikan lele terduga terinfeksi *Aeromonas hydrophila* ginjal berwarna kehitaman. Hal ini diketahui bahwa ikan lele terserang bakteri *Aeromonas hydrophila* memiliki gejala klinis pada organ internal ginjal berwarna merah kehitaman. Perubahan pada warna ginjal diakibatkan karena terjadinya perubahan patologi yang berupa degenerasi hialin pada tubus distal dan artropi pada jaringan hematopoetik. Menurut Plumb (1994), artropi merupakan kondisi jumlah sel yang berkurang pada jaringan atau ketidaknormalan jumlah sel dan biasa disebut penyusutan sel. Atropi dapat disebabkan karena terjadinya malnutrisi, kurangnya persediaan darah yang cukup dan terjadi infeksi kronis

4.3 Hasil Isolasi dan Peremejaan Bakteri

Hasil isolasi bakteri dari ikan lele (*Clarias sp.*) didapatkan 12 isolat.

Pada minggu pertama didapatkan 6 isolat yaitu, LG1, LK1, LG2, LK2, LG3 dan LK3. Pada minggu kedua didapatkan 4 isolat yaitu, LK1, LG1, LK2 dan LG3.

Sedangkan pada minggu ketiga didapatkan 2 isolat yaitu, LK2 dan LK3. Adapun isolat bakteri dugaan *Aeromonas hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Koloni Terduga Bakteri *Aeromonas hydrophila* (Sumber: Data Primer, 2020)

Media seletif *Aeromonas hydrophila* yang digunakan yaitu media Rhimler-Shoot. Hasil isolat bakteri pada media RS didapatkan koloni berwarna kuning cerah. Hasil tersebut sesuai SNI 7303:2009 yang menyebutkan bahwa koloni bakteri *A. hydrophila* akan berwarna kuning tanpa titik hitam dibagian tengah koloninya. Adapun morfologi koloni bakteri dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Morfologi Koloni Bakteri

Ulangan	Kode Isolat	Morfologi Koloni				
		Warna	Bentuk	Diameter (mm)	Elevasi	Tepi
Minggu 1	LG1	Kuning	Circular	1, 13	Convex	Entire
	LK1	Kuning	Circular	2,05	Convex	Entire
	LG2	Kuning	Circular	1, 27	Convex	Entire
	LK2	Kuning kehijauan	Circular	1,28	Convex	Entire
	LG3	Kuning	Circular	2,18	Convex	Entire
	LK3	Kuning	Circular	2,05	Convex	Entire
Minggu 2	LG1	Kuning kehijauan	Circular	2,06	Convex	Entire
	LK1	Kuning kehijauan	Circular	2,21	Convex	Entire
	LG2	ND	ND	ND	ND	ND
	LK2	Kuning Kehijauan	Circular	1, 18	Convex	Entire
	LG3	Kuning Kehijauan	Circular	2,41	Convex	Entire
	LK3	ND	ND	ND	ND	ND
Minggu 3	LG1	ND	ND	ND	ND	ND
	LK1	ND	ND	ND	ND	ND
	LG2	ND	ND	ND	ND	ND
	LK2	Kuning	Circular	2,23	Convex	Entire
	LG3	ND	ND	ND	ND	ND
	LK3	Kuning	Circular	1,96	Convex	Entire

Keterangan : ND (tidak ada data)

Sumber : Data Primer, 2020

Penelitian yang telah dilakukan oleh Saputra dan Indaryanto (2018), mengatakan Koloni *A. hydrophila* memiliki ciri-ciri koloni terpisah, elevasi koloni cembung, dan berbentuk bulat. Selanjutnya didapatkan hasil peremajaan bakteri terduga *Aeromonas hydrophila* pada media TSA. Adapun gambar peremajaan bakteri dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Peremajaan Bakteri Terduga *Aeromonas hydrophila*
(Sumber: Data Primer, 2020)

Peremajaan bakteri hasil isolat pada media TSA didapatkan hasil berwarna kuning. Selain itu hasil peremajaan bakteri terduga *Aeromonas hydrophila* didapatkan koloni yang seragam. Setelah didapatkan hasil yang seragam kemudian dilanjutkan dengan uji lanjutan yaitu uji biokimia. Uji biokimia dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri tersebut.

4.4 Uji Biokimia *Presumptive*

Pewarnaan gram bertujuan untuk mengetahui golongan bakteri yang diuji yaitu negatip atau positif. Hasil pewarnaan gram bakteri ke-12 isolat pada minggu pertama, minggu kedua, dan minggu ketiga adalah bakteri tergolong bakteri gram negative. Bakteri golongan gram negatif mempunyai lapisan tipis peptidoglikan. Lapisan tersebut terdiri dari 1 sampai 2 lapis yang mengakibatkan pori-pori dinding sel bakteri cukup besar. Selain itu, dinding sel pada bakteri gram negatif terdapat lipid dan lemak dengan persentase tinggi sehingga ketika proses proses puncucian dengan alkohol menyebabkan lipid pada bakteri terekstraksi. Hal tersebut mengakibatkan bakteri berwarna merah muda akibat dari zat warna safranin yang ditambahkan (Firnanda *et.al.*, 2013). Setelah dilakukan pewarnaan gram dilakukan pengamatan morfologi sel dibawah mikroskop.

Pengamatan morfologi meliputi bentuk sel dan motilitas dari bakteri.

Hasil pengamatan morfologi sel, terdapat 7 isolat yang mempunyai bentuk sel basil, yaitu pada minggu pertama terdiri dari LK1, LG3 dan LK3; pada minggu kedua terdiri dari LK1, LK2 dan LG3; serta minggu ketiga yaitu LK3. Sedangkan terdapat 5 isolat yang mempunyai bentuk sel kokus, yaitu pada minggu pertama terdiri dari LG1, LG2 dan LK2; pada minggu kedua yaitu LG1; serta pada minggu ketiga yaitu LK2. Golongan gram dan morfologi sel dari bakteri *Aeromonas hydrophila* menurut SNI 7303:2009 adalah golongan gram negatif dan morfologi selnya batang pendek atau basil. Adapun hasil pewarnaan gram dan pengamatan morfologi sel bakteri dapat dilihat pada Tabel 3.



Tabel 3. Hasil Uji Biokimia *Presumtive*

Ulangan	Kode Isolat	Morfologi Sel				
		Gram	Bentuk	Motilitas	Oksidase	Katalase
Minggu 1	LG1	Negatif	Kokus	NonMotil	Negatif	Negatif
	LK1	Negatif	Basil	Motil	Negatif	Negatif
	LG2	Negatif	Kokus	NonMotil	Negatif	Negatif
	LK2	Negatif	Kokus	NonMotil	Negatif	Negatif
	LG3	Negatif	Basil	Motil	Negatif	Negatif
	LK3	Negatif	Basil	Motil	Negatif	Negatif
Minggu 2	LG1	Negatif	Kokus	NonMotil	Negatif	Negatif
	LK1	Negatif	Basil	Motil	Negatif	Negatif
	LG2	ND	ND	ND	ND	ND
	LK2	Negatif	Basil	Motil	Negatif	Negatif
	LG3	Negatif	Basil	Motil	Negatif	Negatif
	LK3	ND	ND	ND	ND	ND
Minggu 3	LG1	ND	ND	ND	ND	ND
	LK1	ND	ND	ND	ND	ND
	LG2	ND	ND	ND	ND	ND
	LK2	Negatif	Kokus	Motil	Negatif	Negatif
	LG3	ND	ND	ND	ND	ND
	LK3	Negatif	Basil	Motil	Negatif	Negatif

Keterangan : ND (tidak ada data)

Sumber : Data Primer, 2020

4.5 Uji Biokimia *Determinative*

Determinative test pada isolat bakteri dilakukan pada isolate bakteri dugaan *Aeromonas hydrophila*. Pada uji ini menggunakan media TSIA (*Triptic Sugar Iron Agar*), Gelatin, Blood Agar dan menggunakan *microbact system*. Berikut adalah hasil uji biokimia *determinative* pada isolate bakteri dugaan *Aeromonas hydrophila*.

- **Uji TSIA**

Pada media TSIA didapatkan hasil bahwa terdapat reaksi positif A/K pada 5 isolat bakteri. Pada minggu pertama yaitu isolat dengan kode LG1, LK1 dan LK2. Pada minggu kedua yaitu isolat dengan kode LK1. Sedangkan pada minggu ketiga yaitu isolat dengan kode LK3. Reaksi A/K ditandai dengan perubahan warna pada media bagian *slant* (miring) berwarna kuning (terjadi reaksi asam) dan *butt* (tegak) berwarna merah *orange* (terjadi reaksi basa),



begitupula sebaliknya. Selain itu terdapat reaksi positif A/A pada 4 isolat bakteri yaitu pada minggu pertama dengan kode isolat LG2. Pada minggu kedua yaitu isolat dengan kode LG1 dan LG3. Sedangkan pada minggu ketiga yaitu dengan kode isolat LK2. Reaksi A/A ditandai dengan perubahan warna pada media bagian *slant* (miring) dan *butt* (tegak) berwarna kuning (terjadi reaksi asam).

Perubahan warna pada media menandakan bahwa bakteri mampu melakukan fermentasi terhadap glukosa, laktosa, dan sukrosa. Bakteri dapat mendegradasi dan memfermentasi karbohidrat yang disertai produksi asam.

Bakteri memiliki sifat metabolisme yang berbeda-beda, hal tersebut berdasarkan interaksi yang terjadi antara metabolit bakteri terhadap zat-zat kimia yang ada dalam media (Haryani *et.al.*, 2012). Adapun hasil pengujian TSIA isolat bakteri dapat dilihat pada Gambar 10.



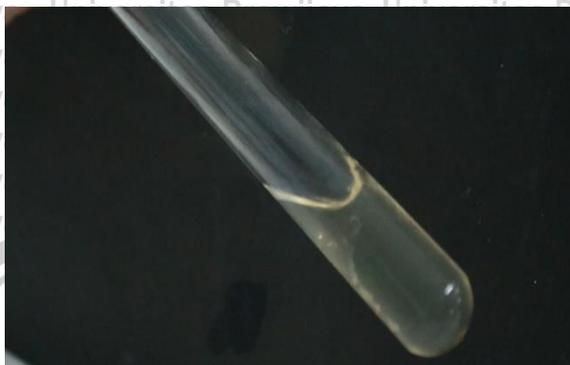
Gambar 10. Hasil Uji TSIA Isolat Bakteri
(Sumber: Data Primer, 2020)

- **Uji Gelatin**

Pada media gelatin didapatkan hasil bahwa reaksi positif terdapat pada 8 isolat bakteri. Pada minggu pertama yaitu LG1, LK2, dan LK3. Pada minggu kedua yaitu LK1, LK2 dan LG3. Pada minggu ketiga yaitu LK2 dan LK3. Reaksi positif ditandai dengan media gelatin tetap cair dan reaksi negatif ditandai dengan media gelatin membeku. Reaksi positif menunjukkan bahwa bakteri

menghasilkan enzim gelatinase yang mampu menghidrolisis gelatin. Struktur utama gelatin adalah gel, sedangkan gelatin yang telah dicerna secara sempurna oleh bakteri tidak mampu membentuk gel dan bersifat cair (Priharta, 2008).

Adapun hasil uji gelatin pada isolat bakteri dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Hasil Uji Gelatin Isolat Bakteri
(Sumber: Data Primer, 2020)

- **Uji Hemolisa**

Pada uji hemolisa dengan media *blood agar* didapatkan hasil bahwa reaksi positif terdapat pada 9 isolat bakteri. Pada minggu pertama yaitu LG1, LK1, LG2, dan LK2. Pada minggu kedua yaitu LG1, LK1 dan LG3. Pada minggu ketiga yaitu LK2 dan LK3. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya zona halo berwarna kuning bening pada koloni bakteri. Seluruh isolat bakteri yang membentuk zona bening menghasilkan β hemolisa, yaitu hemolisa sempurna.

Hal tersebut menandakan bahwa ke-9 isolat bakteri mampu melisis sel darah.

Hemolisin merupakan toksin yang dapat membentuk suatu zona hemolisis disekitar koloni bakteri (Khusnan *et al.*, 2008). Adapun hasil uji hemolisa isolat bakteri dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Hasil Uji Hemolisa Isolat Bakteri
(Sumber: Data Primer, 2020)

• **Microbact System**

Uji *Determinative* dengan metode *microbact system* menggunakan kit 12A, 12E atau 24E. Jika hasil uji oksidase negatif menggunakan *microbact system* 12A atau 12E, sedangkan jika hasil oksidasenya positif maka menggunakan 24E. Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan, hasil uji *determinative* metode *microbact system* dapat dilihat pada Tabel 4,5, dan 6.

Tabel 4. Hasil Uji Biokimia *Determinative* Isolat Bakteri Minggu Pertama

Uji Biokimia	Minggu Pertama						Bergey
	Pedagang 1		Pedagang 2		Pedagang 3		
	LG1	LK1	LG2	LK2	LG3	LK3	
Nitrat	+	+	+	+	+	+	+
Lysin	+	-	-	-	-	-	+
Ornithin	+	-	-	+	+	+	-
H ₂ S	+	+	+	+	-	-	-
Glukosa	+	+	+	+	+	+	+
Manitol	+	+	+	+	+	+	+
Xylosa	+	-	-	+	+	+	-
ONPG	+	+	+	+	+	+	+
Indole	+	+	+	+	-	-	+
Urease	+	+	+	-	-	-	-
V-P	+	+	+	+	+	+	+
Sitrat	+	+	+	+	+	-	D
TDA	+	+	-	+	+	+	ND
Gelatin	+	+	+	+	-	-	+
Malonat	-	-	-	+	+	+	-
Inositol	-	-	-	+	+	+	-
Sorbitol	-	-	-	+	+	+	-
Rhamnosa	-	-	-	-	-	-	D
Sukrosa	+	+	-	+	-	-	+
Lactosa	-	-	+	-	-	-	D
Arabinosa	+	-	-	-	-	-	D
Adonitol	-	-	-	-	-	+	-
Raffinosa	-	-	-	-	-	-	-
Salicin	-	-	-	-	-	+	D
Arginin	-	-	-	-	-	-	+
Koagulase	-	-	-	-	-	-	ND
Hemolisa	Beta	Beta	Beta	Beta	Beta	Beta	+

Keterangan : ND = Tidak ada data

Sumber : Data Primer, 2020

Tabel 5. Hasil Uji Biokimia *Determinative* Isolat Bakteri Minggu Kedua

Uji Biokimia	Minggu Kedua						Bergey
	Pedagang 1		Pedagang 2		Pedagang 3		
	LG1	LK1	LG2	LK2	LG3	LK3	
Nitrat	+	+	ND	+	+	ND	+
Lysin	+	+	ND	-	-	ND	+
Ornithin	-	-	ND	-	-	ND	-
H ₂ S	+	+	ND	-	+	ND	-
Glukosa	+	-	ND	-	+	ND	+
Manitol	+	+	ND	+	+	ND	+
Xylosa	-	-	ND	-	-	ND	-
ONPG	+	+	ND	+	+	ND	+
Indole	+	+	ND	-	+	ND	+
Urease	+	+	ND	-	-	ND	-
V-P	+	+	ND	-	+	ND	+
Sitrat	+	+	ND	-	-	ND	D
TDA	+	+	ND	+	+	ND	ND
Gelatin	-	+	ND	+	+	ND	+
Malonat	-	-	ND	-	-	ND	-
Inositol	-	-	ND	-	-	ND	-
Sorbitol	-	-	ND	-	-	ND	-
Rhamnosa	-	-	ND	-	-	ND	D
Sukrosa	-	+	ND	-	-	ND	+
Lactosa	+	-	ND	-	+	ND	D
Arabinosa	-	-	ND	+	+	ND	D
Adonitol	-	-	ND	-	-	ND	-
Raffinosa	-	-	ND	-	-	ND	-
Salicin	-	-	ND	+	+	ND	D
Arginin	-	-	ND	-	-	ND	+
Koagulase	-	-	ND	-	-	ND	ND
Hemolisa	Beta	Beta	ND	Beta	Beta	ND	+

Keterangan : ND = Tidak ada data

Sumber : Data Primer, 2020



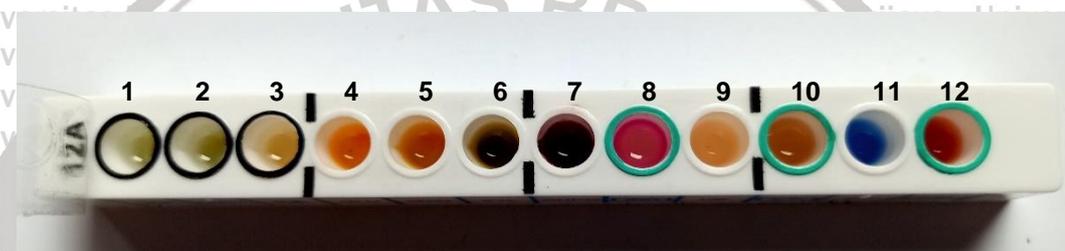
Tabel 6. Hasil Uji Biokimia *Determinative* Isolat Bakteri Minggu Ketiga

Uji Biokimia	Minggu Ketiga						Bergey
	Pedagang 1		Pedagang 2		Pedagang 3		
	LG1	LK1	LG2	LK2	LG3	LK3	
Nitrat	ND	ND	ND	+	ND	-	+
Lysin	ND	ND	ND	-	ND	-	+
Ornithin	ND	ND	ND	-	ND	+	-
H ₂ S	ND	ND	ND	+	ND	+	-
Glukosa	ND	ND	ND	+	ND	-	+
Manitol	ND	ND	ND	+	ND	-	+
Xylosa	ND	ND	ND	-	ND	-	-
ONPG	ND	ND	ND	+	ND	+	+
Indole	ND	ND	ND	+	ND	+	+
Urease	ND	ND	ND	+	ND	-	-
V-P	ND	ND	ND	+	ND	+	+
Sitrat	ND	ND	ND	+	ND	+	D
TDA	ND	ND	ND	+	ND	-	ND
Gelatin	ND	ND	ND	+	ND	-	+
Malonat	ND	ND	ND	-	ND	-	-
Inositol	ND	ND	ND	-	ND	+	-
Sorbitol	ND	ND	ND	-	ND	+	-
Rhamnosa	ND	ND	ND	-	ND	-	D
Sukrosa	ND	ND	ND	-	ND	+	+
Lactosa	ND	ND	ND	+	ND	-	D
Arabinosa	ND	ND	ND	-	ND	-	D
Adonitol	ND	ND	ND	-	ND	+	-
Raffinosa	ND	ND	ND	-	ND	-	-
Salicin	ND	ND	ND	-	ND	+	D
Arginin	ND	ND	ND	-	ND	-	+
Koagulase	ND	ND	ND	-	ND	-	ND
Hemolisa	ND	ND	ND	Beta	ND	Beta	+

Keterangan : ND = Tidak ada data

Sumber : Data Primer,2020

Hasil uji *determinative* dari ke-12 isolat bakteri diketahui bahwa tidak ada terdapat bakteri positif *Aeromonas hydrophila*. Bakteri yang teridentifikasi dari ikan lele di Pasar Dinoyo yaitu *Citrobacter freundii*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhi*, dan *Proteus mirabilis*. Hal ini menunjukkan bahwa cemaran bakteri dari ikan lele terdapat bakteri *Citrobacter freundii*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhi*, dan *Proteus mirabilis*, yang teridentifikasi dari ikan lele (*Clarias* sp.) konsumsi yang dijual di Pasar Dinoyo, Kota Malang. Adapun hasil uji *determinative* menggunakan *microbact system* dengan sumur kit 12A dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Sumur KIT 12A Microbact System

Keterangan: 1: *Lysine*; 2: *Ornithine*; 3: H_2S ; 4: *Glucose*; 5: *Mannitol*; 6: *Xylose*; 7: ONPG; 8: *Indole*; 9: *Urease*; 10: *VP*; 11: *Citrate*; 12: *TDA*
(Sumber: Data Primer, 2020)

Hasil perubahan warna pada sumur *microbact system* dibandingkan dengan tabel warna *microbact system* yang telah tersedia. Pada kelompok pertama terdapat 3 reaksi uji, yaitu *lysine*, *ornithine*, dan H_2S . Pada uji *lysine*, didapatkan hasil sumur berubah menjadi kuning. Warna kuning pada uji *lysine* menandakan reaksi negatif yaitu tidak terbentuknya amina kadaverin spesifik akibat dari dekarboksilase lisin. Pada uji *ornithine*, didapatkan hasil sumur berwarna hijau. Warna hijau pada uji *ornithine* menandakan reaksi negatif yaitu tidak terbentuknya amina putresin spesifik akibat dari dekarboksilase arginine. Pada uji H_2S , didapatkan hasil sumur berwarna jerami. Warna jerami pada uji H_2S menandakan reaksi negatif yaitu tidak terbentuknya H_2S dalam sumur.

Pada kelompok kedua terdapat 3 reaksi uji, yaitu *glucose*, *mannitol*, dan *xylose*. Perubahan warna kuning pada sumur glukosa dan mannitol menunjukkan reaksi positif yang menandakan isolat bakteri mampu melakukan fermentasi terhadap karbohidrat dan membentuk senyawa asam. Selain itu, perubahan warna hijau pada sumur *xylose* menunjukkan reaksi negatif yang menandakan bakteri tidak mampu melakukan fermentasi terhadap karbohidrat.

Pada kelompok ketiga terdapat 3 reaksi uji, yaitu ONPG, *indole*, dan urease. Pada uji ONPG, didapatkan hasil tanpa warna pada sumur *microbact*. Tidak ada warna tersebut menandakan reaksi negatif. Pada uji *indole*, didapatkan hasil sumur berwarna pink. Warna pink pada uji *indole* menandakan reaksi positif yaitu terbentuknya *indole* dari metabolisme triptofan. Pada uji urease, didapatkan hasil sumur berwarna jerami. Warna jerami pada uji urease menandakan reaksi negatif yaitu tidak terjadinya pemecahan urea menjadi amonium.

Pada kelompok keempat terdapat 3 reaksi uji, yaitu VP, *citrate*, dan TDA. Pada uji VP, didapatkan hasil sumur berwarna jerami. Warna jerami pada uji VP menandakan reaksi negatif yaitu bakteri tidak memproduksi acetoin. Pada uji *citrate*, didapatkan hasil sumur berwarna biru. Warna biru pada uji *citrate* menandakan reaksi positif yaitu bakteri mampu menggunakan *citrate* sebagai sumber karbon. Pada uji TDA, didapatkan hasil sumur berwarna *cerry red*. Warna *cerry red* pada uji TDA menandakan bakteri menghasilkan indolpiruvat.

Bakteri *Salmonella typhi* teridentifikasi di minggu pertama pada pedagang 1 dengan kode isolat LG1, pedagang 2 dengan kode isolat LG2 dan pada minggu kedua dari pedagang 1 dengan kode isolat LG1. Bakteri *Citrobacter freundii* teridentifikasi di minggu pertama pada pedagang 1 dengan kode isolat LK1, pedagang 2 dengan kode isolat LK2, pada minggu kedua dari pedagang 1 dengan kode isolat LK1 dan pedagang 2 dengan kode isolat LK2. Bakteri

Proteus mirabilis teridentifikasi di minggu pertama dari pedagang 3 dengan kode isolat LG3, pada minggu kedua dari pedagang 3 dengan kode isolat LG3, pada minggu ketiga dari pedagang 2 dengan kode isolat LK2 dan dari pedagang 3 dengan kode isolat LK3. Bakteri *Enterococcus faecalis* teridentifikasi di minggu pertama dari pedagang 3 dengan kode isolat LK3. Adapun species bakteri yang teridentifikasi dari hasil uji *determinative* dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Uji *Determinative* Isolat Bakteri

Ulangan	Pedagang	Kode Isolat	Bakteri
Minggu 1	1	LG1	<i>Salmonella typhi</i>
		LK1	<i>Citrobacter freundii</i>
	2	LG2	<i>Salmonella typhi</i>
		LK2	<i>Citrobacter freundii</i>
	3	LG3	<i>Proteus mirabilis</i>
		LK3	<i>Enterococcus faecalis</i>
Minggu 2	1	LG1	<i>Salmonella typhi</i>
		LK1	<i>Citrobacter freundii</i>
	2	LG2	ND
		LK2	<i>Citrobacter freundii</i>
	3	LG3	<i>Proteus mirabilis</i>
		LK3	ND
Minggu 3	1	LG1	ND
		LK1	ND
	2	LG2	ND
		LK2	<i>Proteus mirabilis</i>
	3	LG3	ND
		LK3	<i>Proteus mirabilis</i>

Keterangan : ND = Tidak ada data
 Sumber : Data Primer, 2020

5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan kesimpulan mengenai keamanan ikan lele (*Clarias sp.*) konsumsi dari bakteri *Aeromonas hydrophila* yang dijual di Pasar Dinoyo diketahui bahwa tidak ada terdapat bakteri positif *Aeromonas hydrophila*. Bakteri yang teridentifikasi yaitu *Citrobacter freundii*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis* dan bakteri *Proteus mirabilis*. Meskipun tidak teridentifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele yang dijual di Pasar Dinoyo, ikan lele tersebut tidak layak dikonsumsi karena terdapat bakteri lain yang berbahaya bila dikonsumsi.

5.2 Saran

Pada penelitian ini, saran yang dapat diberikan adalah perlu dilakukannya sosialisasi terhadap konsumen atau masyarakat dan pedagang mengenai keamanan ikan lele (*Clarias sp.*) bakteri khususnya *Aeromonas hydrophila* dengan mengenali gejala klinis yang ditimbulkan

DAFTAR PUSTAKA

- Affii, I.M. 2014. Pemanfaatan bioflok pada budidaya ikan lele dumbo (*Clarias sp.*) dengan padat tebar berbeda terhadap laju pertumbuhan dan survival rate (SR). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Anggraini R., D, Aliza dan S Mellisa. 2016 Identifikasi Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Dengan Uji Mikrobiologi Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Dibudidayakan Di Kecamatan Baitussalam, Kabupaten Aceh Besar. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah 1(2): 270-286.
- Arwin, M., F. G. Ijong, dan R. Tumbol. 2016. Characteristics of *Aeromonas hydrophila* isolated from tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquatic science and management*. 4(2):58.
- Austin, B and D. A. Austin. 1987. *Bacterial Fish Pathogens: Disease in Farmed and Wild Fish*. John Wiley and Sons, Chicester.
- Badan Pusat Statistik. 2012. *Statistik Kelautan dan Perikanan Tahun 2012*. Kementerian Kelautan dan Perikanan. Jakarta. 129 hlm.
- Balbuena R, R. MVM., F. NA dan M. J. Galeano A. 2011. *Manual básico de sanidad piscícola*. Ministerio de agricultura y ganadería. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO).
- Granum, P. E., O. Sullivan., K. Tomas, J. M dan Ormen, O. 1998. Possible virulence factors of *Aeromonas* spp. from food and water. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 21. hal: 131–137.
- Haryani A, Grandiosa A, Buwono ID dan Santika A. 2012. Uji fektivitas daun papaya (*Carica papaya*) untuk pengobatan infeksi bakteri *A. hydrophila* pada ikan mas koki (*Carassius auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 3(3):213- 220.
- Holt, J. G., N. R. Krieg., P. H. A. Sneath., J. T. Staley & S. T. Williams. 1994. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th Edition. A. Waverly Company Williams and Wilkins. Baltimore. Hal 787
- Hossain, M.D., M.K. Hossain, M.H. Rahman, A. Akter, and D.A. Khanom. 2008. *Prevalence of ectoparasites of carp fingerlings at Santaher, Bogra. Universal Journal of Zooog*. 27: 17-19.

Igbinosa, I.H., E.U. Igumbor., F.Aghdasi., M. Tom dan A. I. Okoh. 2012. Emerging aeromonas species infections and their significance in public health. *The Scientific World Journal*.

Kabata, Z. 1985. Parasites and disease of fish cultured in the tropics. London and Philadelphia: Taylor and Francis Press

KIPM. www.bkipm.kkp.go.id. Diakses pada tanggal 27 Maret 2020

Krieg, N.R dan J.G. Holt. 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Edisi ke-1. United States of America Baltimore. Williams dan Wilkins Compan

Olga. 2014. Patogenitas bakteri *Aeromonas hydrophila* ASB01 pada ikan gabus (*Ophicephalus striatus*). *Sains Aquatik* 14(1): 33-39

Plumb., J.A. 1994. Health maintenance of cultured fishes, principal microbial Diseases. Crc press. Amerika. 239.

Priharta, A. 2008. Isolasi dan identifikasi bakteri endofit dalam batang tanaman artemisia annua l. Yang diuji potensi antibakterianya terhadap *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi tidak dipublikasikan. Jogjakarta:Universitas Sanata Darma.

Rahardjo, M.F dan Muniarti. 1984. Anatomi beberapa jenis ikan ekonomis penting Indonesia. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

Rejeki, S., Triyanto, dan Murwantoko. 2016. Isolasi dan identifikasi *Aeromonas* spp. dari lele dumbo (*Clarias sp.*) sakit di kabupaten ngawi. *Jurnal Perikanan Universitas Gajah Mada* 18 (2): 55-60.

Saputra, I dan F.R. Indaryanto. 2018. Identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada komoditas ikan yang dilalulintaskan menuju Pulau Sumatera melalui pelabuhan penyeberangan Merak – Banten. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 8(2): 155-162

Suwarno, Y. F., Sarjito, dan Prayitno, S. B. 2014. Sensitivitas bakteri yang berasosiasi dengan penyakit ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) terhadap berbagai macam obat ikan yang beredar di Kabupaten Pati. *Journal of Aquaculture*. 3 (4): 134-141.

Thanikachalam K, Marimutu K, Xavier R. 2010. *Effect of garlic peel on growth, Haematological parameters and disease resistance against Aeromonas hydrophila in african catfish Clarias gariepinus (Bloch) fingerlings*. *Asian Pasific Journal of Tropical Medicine*. 1: 614 - 618.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembuatan Media *Rhimler Shoot* (RS)

Timbang RS sebanyak 0,91 gram

Larutkan dalam 20 ml aquades di erlenmeyer

Tutup erlemeyer dengan aluminium foil dan kertas

Rebus selama 15 menit untuk mengaktifkan agar

Media dimasukkan ke dalam cawan petri dan didinginkan

Didapatkan RS steril dan siap untuk dipakai

Rumus Perhitungan:

$$RS = \frac{45,43}{900} \times 20\text{ml} = 0,91 \text{ gram}$$

Lampiran 2. Pembuatan Media TSA

Timbang TSA sebanyak 0,8 gram

Larutkan dalam 20 ml aquades di erlenmeyer

Tutup erlemeyer dengan alumunium foil dan kertas

Rebus selama 15 menit untuk mengaktifkan agar

Sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit

Media dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi dan dimiringkan

Rumus Perhitungan:

$$TSA = \frac{40}{1000} \times 10\text{ml} \times 2 = 0,8 \text{ gram}$$

Lampiran 3. Pembuatan Media TSIA

Timbang TSA sebanyak 1,3 gram

Larutkan dalam 20 ml aquades di erlenmeyer

Tutup erlemeyer dengan alumunium foil dan kertas

Rebus selama 15 menit untuk mengaktifkan agar

Sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit

Media dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi dan dimiringkan

Rumus Perhitungan:

$$TSA = \frac{65}{1000} \times 10\text{ml} \times 2 = 1,3 \text{ gram}$$

Lampiran 4. Pembuatan Media Gelatin

Timbang Gelatin sebanyak 2,56 gram

Larutkan dalam 20 ml aquades di erlenmeyer

Tutup erlemeyer dengan alumunium foil dan kertas

Rebus selama 15 menit untuk mengaktifkan agar

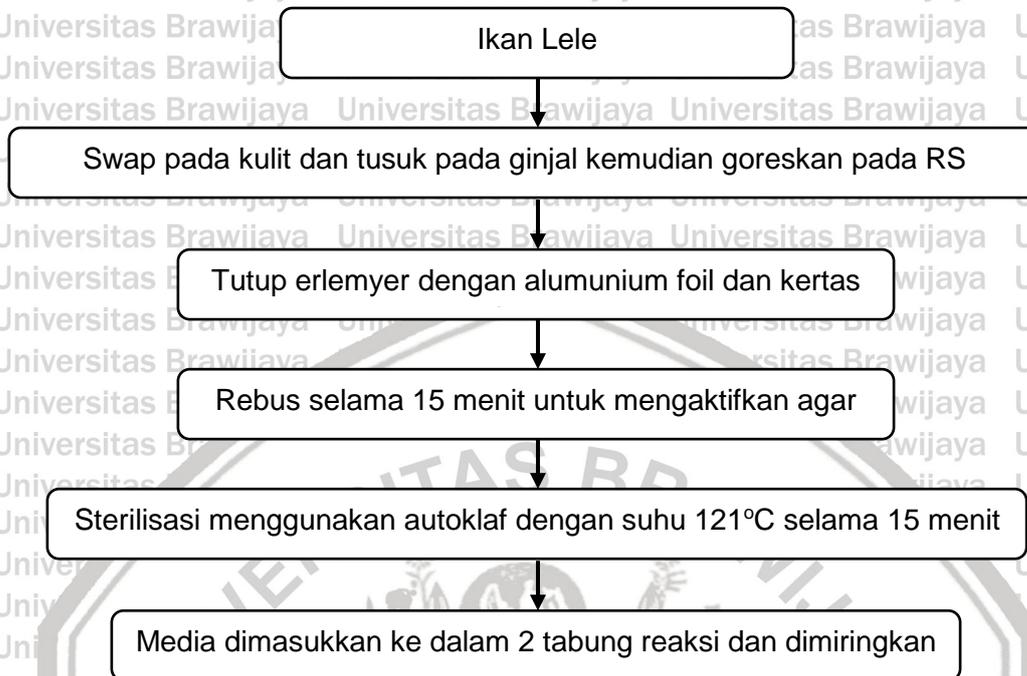
Sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit

Media dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi dan dimiringkan

Rumus Perhitungan:

$$TSA = \frac{128}{1000} \times 10\text{ml} \times 2 = 2,56 \text{ gram}$$

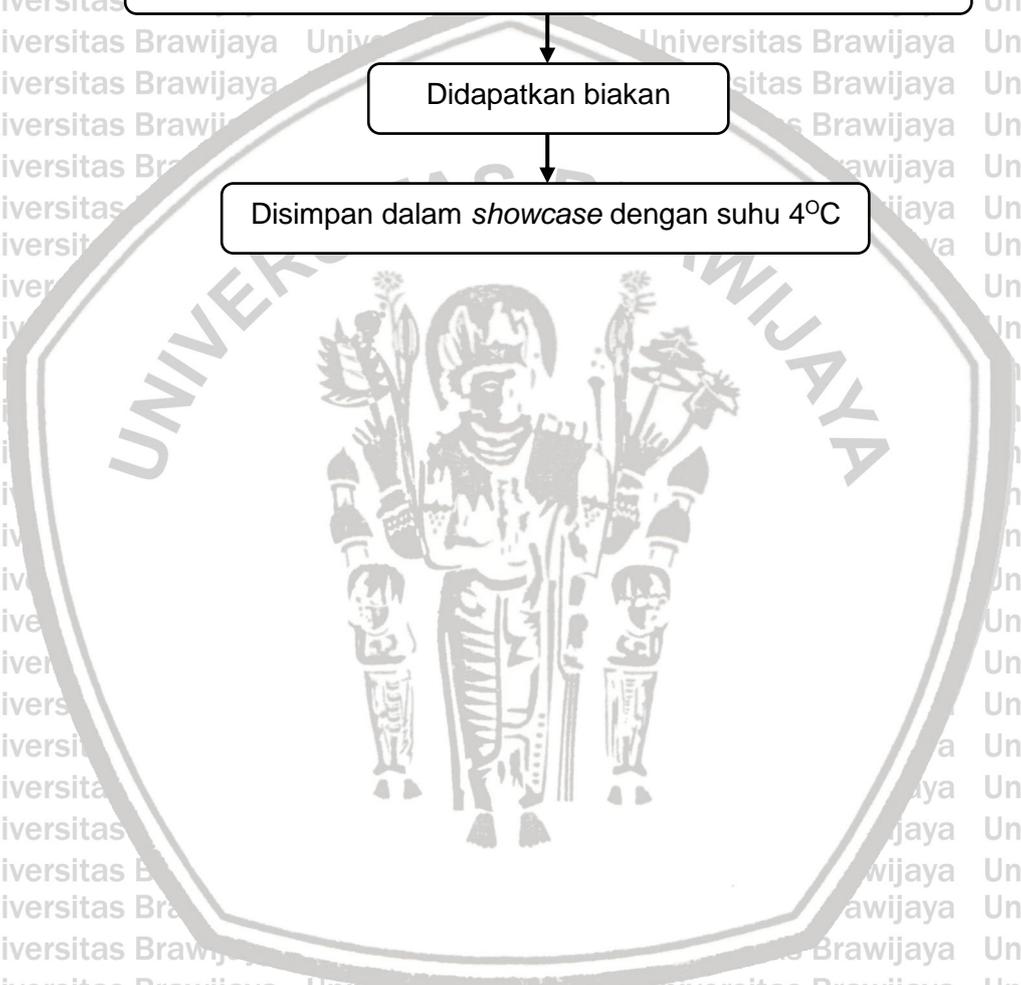
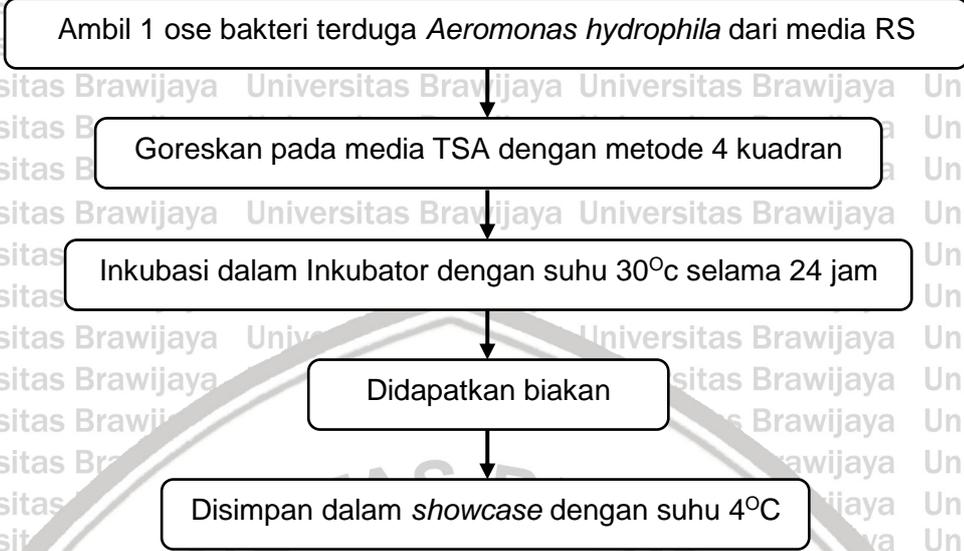
Lampiran 5. Isolasi Bakteri dari Ikan Lele ke media RS



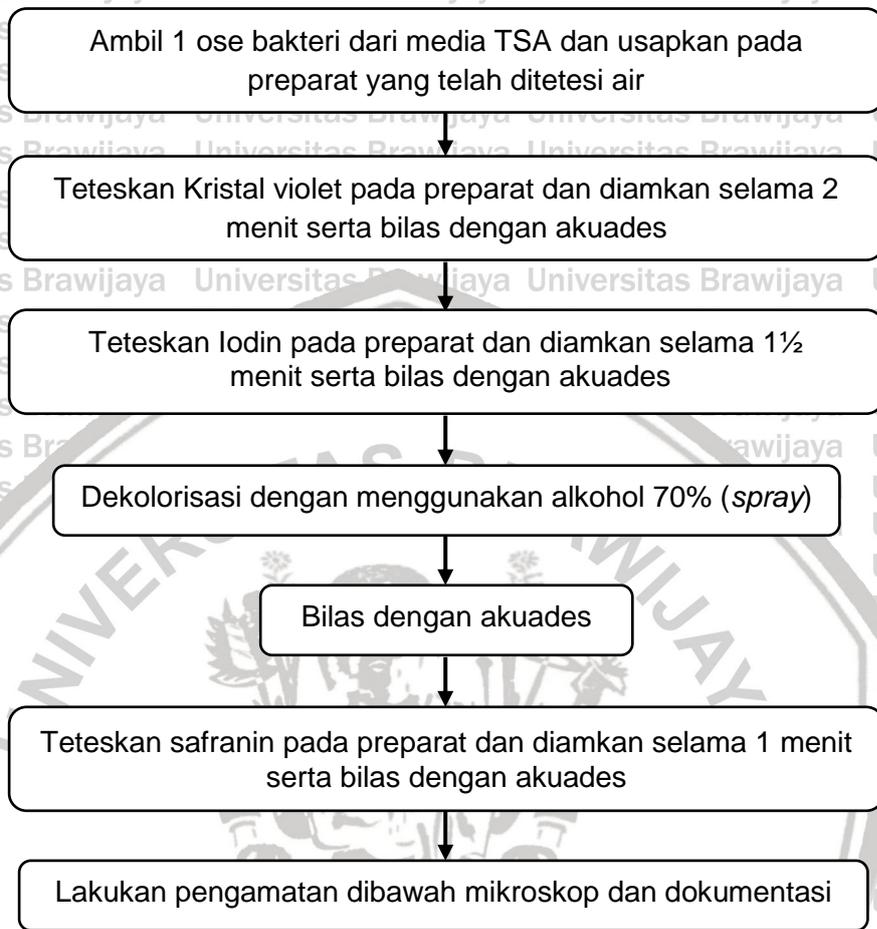
Rumus Perhitungan:

$$\text{TSA} = \frac{40}{1000} \times 10\text{ml} \times 2 = 0,8 \text{ gram}$$

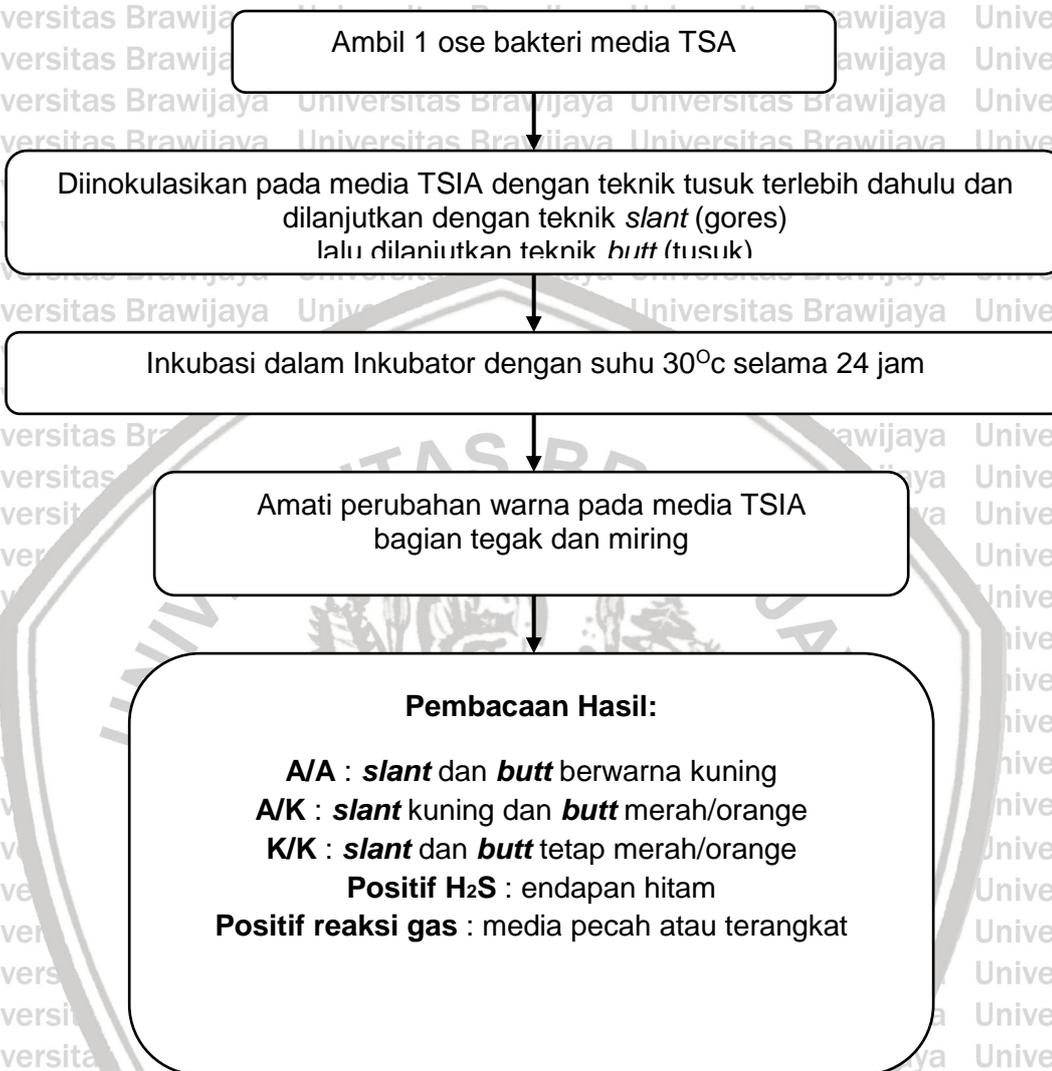
Lampiran 6. Peremajaan bakteri



Lampiran 7. Pewarnaan Gram dan Pengamatan Morfologi



Lampiran 8. Uji TSIA *Aeromonas hydrophila*



Lampiran 9. Uji Gelatin *Aeromonas hydrophila*

Ambil 1 ose bakteri media TSA

Diinokulasikan pada media gelatin dengan teknik tusuk terlebih dahulu dan dilanjutkan dengan teknik *slant* (gores) lalu dilanjutkan teknik *butt* (tusuk)

Inkubasi dalam Inkubator dengan suhu 30°C selama 24 jam

Masukkan media ke dalam kulkas dengan suhu 4-7°C selama 15 menit

Pembacaan Hasil:

Positif (+) : Media tetap cair
Negatif (-) : Media membeku

Lampiran 10. Uji Hemolisis (BA) *Aeromonas hydrophila*

Ambil 1 ose bakteri media TSA

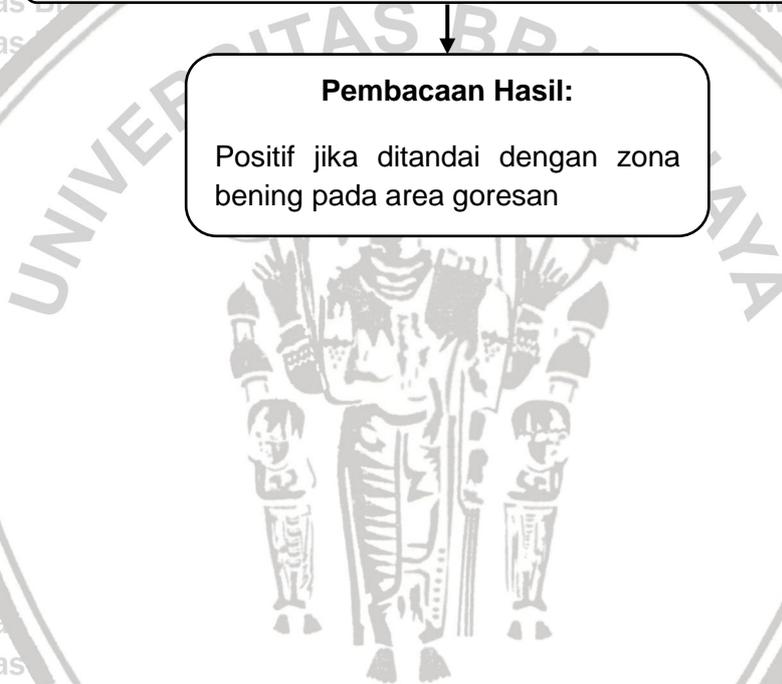
Diinokulasikan pada *blood agar* dengan teknik kuadran

Inkubasi dalam Inkubator dengan suhu 30°C selama 24 jam

Amati perubahan yang terjadi pada area goresan

Pembacaan Hasil:

Positif jika ditandai dengan zona bening pada area goresan



Lampiran 11. Uji Biokimia Metode Microbact

Ambil 1 koloni bakteri dari media TSA dan larutkan ke dalam 5 ml garam fisiologis 0,9% pada tabung reaksi serta divortex

Teteskan 100 UI (4 tetes) ke dalam sumur *microbact*, pada sumur Lysin, Omitin, dan H₂S tambahkan mineral oil 1-2 tetes

Microbact diinkunasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam

Pada sumur 7 tambahkan 2 tetes reagent Nitrat A dan B,
Pada sumur 8 tambahkan 2 tetes Indol Kovact,
Pada sumur 10 tambahkan 1 tetes VP I dan VP II,

Pembacaan hasil:

1. Pada uji fermentasi karbohidrat (*microbact* 12B) dilakukan tanpa penambahan reagen. Hasil positif ditandai dengan warna kuning, negatif ditandai dengan warna tetap biru.
2. Evaluasi hasil +/- dibandingkan dengan tabel warna

Lampiran 12. Dokumentasi Pembuatan Media Rhimler Shoot



Timbang RS sebanyak 1 gram



Larutkan dalam akuades 20 ml dan dihomogenkan



Tutup erlenmeyer dengan kapas dan plastic wrap



Diperoleh RS steril



RS dituang kedalam cawan petri



Rebus media selama 15 menit

Lampiran 13. Dokumentasi Pembuatan Media TSA



Timbang TSA sebanyak 0,8 gram



Larutkan dalam akuades 20 ml dan dihomogenkan



Tutup erlenmeyer dengan kapas dan plastic wrap



Tuang media kedalam cawan petri



Sterilisasi dengan autoklaf selama 15



Rebus media selama 15 menit



Didapatkan media TSA steril

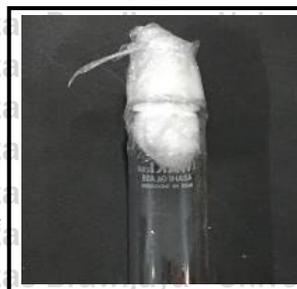
Lampiran 14. Dokumentasi Pembuatan Media TSIA



Timbang TSIA sebanyak 1,3 gram



Larutkan dalam akuades 20 ml dan dihomogenkan



Tutup erlenmeyer dengan kapas dan plastik wrap



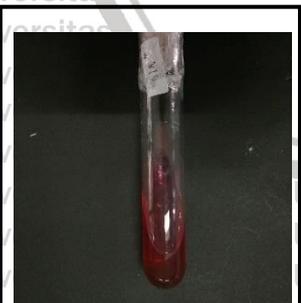
Masukkan kedalam tabung reaksi dan miringkan



Sterilisasi dengan autoklaf



Rebus media selama 15 menit



Didapatkan media TSA steril

Lampiran 15. Dokumentasi Pembuatan Media Gelatin



Timbang gelatin
2,56 gram



Larutkan dalam
akuades 20 ml



Tutup erlenmeyer
dengan aluminium
foil dan kertas



Masukkan kedalam
tabung reaksi dan
miringkan



Sterilisasi dengan
autoklaf



Rebus media
selama 15 menit

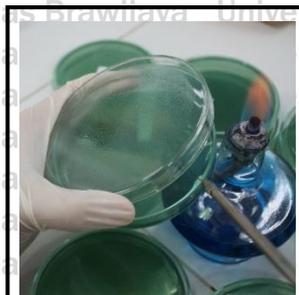
Lampiran 16. Dokumentasi Isolasi Bakteri dari Ikan Lele



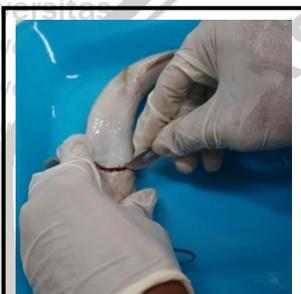
Siapkan ikan lele terduga terinfeksi



Swap dengan jarum ose pada bagian kulit terluka



Gores pada media RS metode kuadran



Bedah perut lele dengan pisau steril



Bersihkan kulit lele dengan alkohol 70%



Inkubasi dengan suhu 30°C selama 24 jam



Tusuk organ ginjal secara aseptis



Goreskan pada media RS metode kuadran



Inkubasi dengan suhu 30°C selama 24 jam

Lampiran 17. Dokumentasi Peremajaan Bakteri



Ambil 1 koloni pada media RS secara aseptis



Goreskan pada media TSA metode 4 kuadran



Inkubasi dengan suhu 30°C selama 24 jam



Didapatkan kultur murni



Lampiran 18. Dokumentasi Uji Gelatin



Ambil 1 koloni pada media TSA secara aseptis



Goreskan pada media gelatin, tusuk dan *slant*



Inkubasi selama 24 jam dalam suhu 30°C



Amati perubahan yang terjadi



Masukkan kedalam lemari pendingin selama 15 menit

Lampiran 19. Dokumentasi Uji TSIA



Ambil 1 koloni pada media TSA secara aseptis



Goreskan pada media TSIA, tusuk dan slant



Inkubasi dalam suhu 24 jam dengan suhu 30°C



Amati perubahan yang terjadi



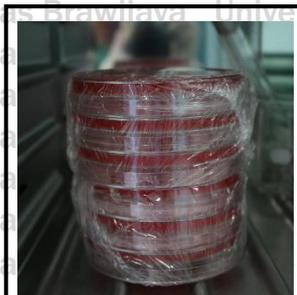
Lampiran 20. Dokumentasi Uji Hemolisis



Ambil 1 koloni pada media TSA secara aseptis



Goreskan pada media BA



Inkubasi selama 24 jam dengan suhu 30°C



Amati perubahan yang terjadi

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Lampiran 21. Dokumentasi Pewarnaan Gram Bakteri



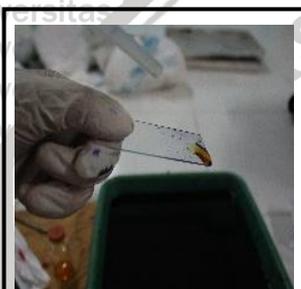
Siapkan preparat dan teteskan air



Ambil 1 ose bakteri dan goreskan pada preparat



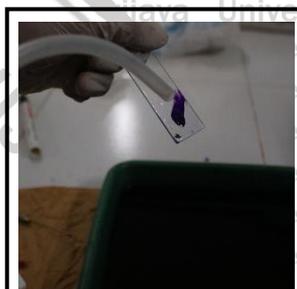
Teteskan Kristal violet dan diamkan selama 2 menit



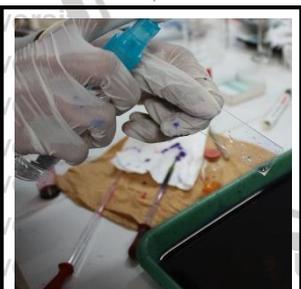
Bilas dengan akuades



Teteskan iodin dan diamkan selama 1½ menit



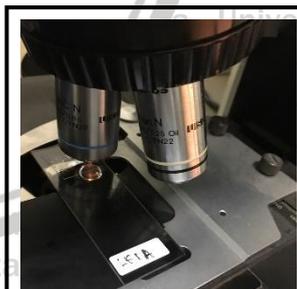
Bilas dengan akuades dan lakukan fiksasi



Dekolorisasi dengan alkohol 70%



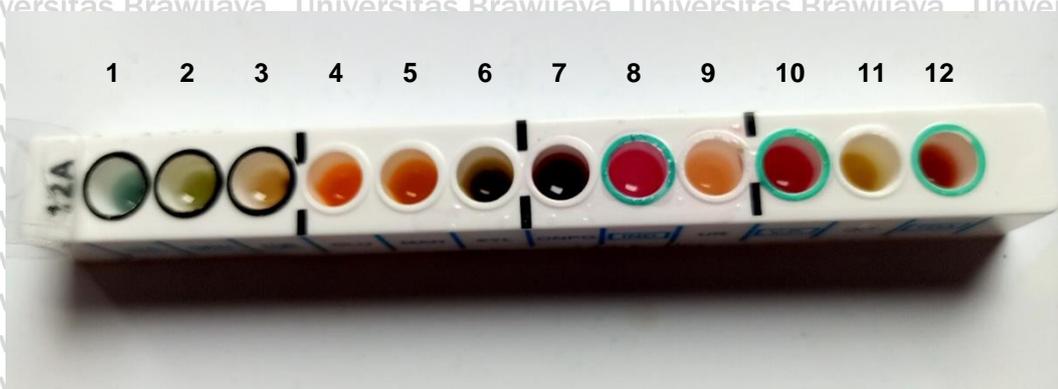
Teteskan safranin dan diamkan selama 1 menit



Lakukan pengamatan morfologi

Lampiran 22. Dokumentasi Hasil Uji *Microbact System 12A*

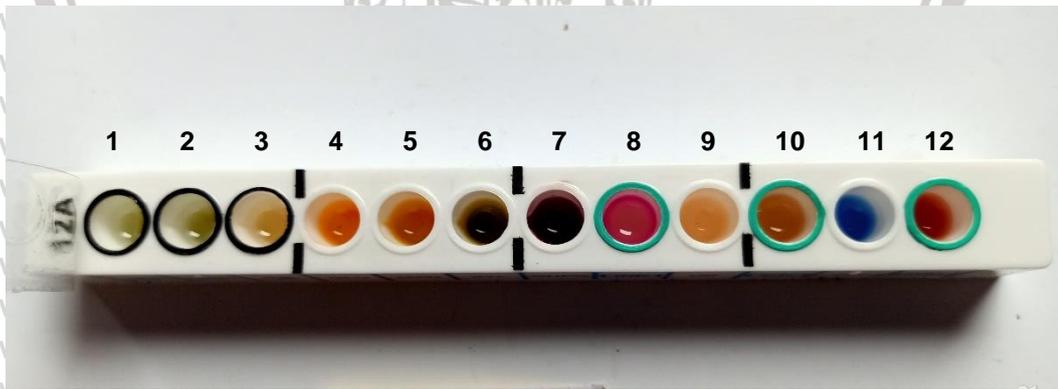
Sumur Bakteri *Salmonella typhi*



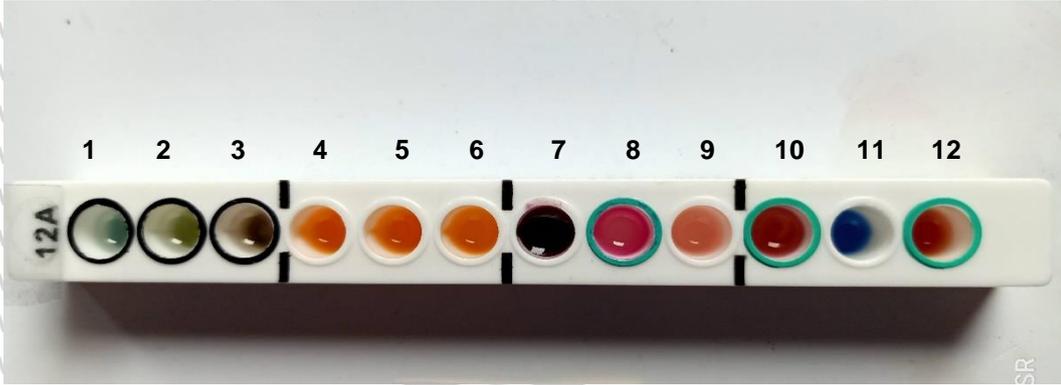
Sumur Bakteri *Enterococcus faecalis*



Sumur Bakteri *Citrobacter freundii*



Sumur Bakteri *Proteus mirabilis*



Keterangan:

- 1 : Lysine
- 2 : Ornithine
- 3 : H₂S
- 4 : Glucose
- 5 : Mannitol
- 6 : Xylose
- 7 : ONPG
- 8 : Indole
- 9 : Urease
- 10: VP
- 11: Citrate
- 12: TDA

