

**IDENTIFIKASI DAN UJI INVITRO BAKTERI PENYEBAB EKOR MELEPUH
PADA LOBSTER AIR TAWAR (*Cerax quadricarinatus*) MENGGUNAKAN
GENTAMICIN**

**SKRIPSI
MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
BUDIDAYA PERAIRAN**

**OLEH:
NOVI NURHAYATI
NIM. 0310850058**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN**

MALANG

2008

**IDENTIFIKASI DAN UJI INVITRO BAKTERI PENYEBAB EKOR MELEPUH
PADA LOBSTER AIR TAWAR (*Cerax quadricarinatus*) MENGGUNAKAN
GENTAMICIN**

*Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan pada
Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang*

**OLEH:
NOVI NURHAYATI
NIM. 0310850058**

Dosen Penguji I

Dr. Ir. Arief Prajitno, MS.

Tanggal :

Dosen Penguji II

Dr. Ir. Sri Andayani, MS

Tanggal :

**Menyetujui,
Dosen Pembimbing I**

Dr. Ir. MAFTUCH, MSi.

Tanggal :

Dosen Pembimbing II

Ir. M. RASYID FADHOLI, MSi.

Tanggal :

**Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP**

Ir. MAHENO SRI W., MS

Tanggal :



“Tuntutlah ilmu, sesungguhnya menuntut ilmu adalah pendekatan diri kepada

الله عزوجل dan mengajarkannya kepada orang yang tidak mengetahuinya adalah shodaqoh. Sesungguhnya ilmu pengetahuan menempatkan orangnya dalam kedudukan terhormat dan mulia. Ilmu pengetahuan adalah keindahan bagi ahlinya di dunia dan di akhirat.” (Hadis Riwayat Ar-Rabii’)

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



..... الحمد لله رب العلمين

Sebuah karya kecil ini kupersembahkan untuk alm. Bpk Purwandi, almh. Ibu Sri Retnoningsih, Mama, Papa, Kakak dan untuk seseorang yang kelak menjadi imam dalam shalatku.

RINGKASAN

NOVI NURHAYATI. Identifikasi Dan Uji Invitro Bakteri Penyebab Ekor Melepuh Pada Lobster Air Tawar (*Cherax quadricarinatus*) Menggunakan Gentamicin. **(Dibawah Bimbingan Dr. Ir. Maftuch, MSi. dan Ir. M. Rasyid Fadholi MSi).**

Penelitian dilaksanakan di Balai Karantina Ikan Juanda Surabaya kemudian dilanjutkan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Maret - Oktober 2007. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui bakteri penyebab ekor melepuh pada lobster air tawar *Cherax quadricarinatus* dan untuk mengetahui sensitivitas gentamicin dengan dosis yang berbeda terhadap bakteri yang menyebabkan ekor melepuh, serta untuk mengetahui perbedaan jaringan ekor dan hepatopankreas lobster yang sehat maupun yang terinfeksi bakteri.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen, dengan rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan 5 perlakuan 3 kali ulangan. Sebagai perlakuan adalah perbedaan dosis gentamicin 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm dan 30 ppm. Parameter utama dalam penelitian ini adalah daya hambat gentamicin terhadap bakteri penyebab ekor melepuh lobster air tawar *Cherax quadricarinatus*. Sedangkan parameter penunjang adalah pH media dan pengamatan kerusakan jaringan ekor dan hepatopankreas lobster (histopatologi).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri yang menyebabkan ekor melepuh pada lobster air tawar *Cherax quadricarinatus* adalah *Aeromonas hydrophila* dan *Aeromonas caviae*. Pemberian gentamicin dengan dosis yang berbeda berpengaruh nyata terhadap daya hambat bakteri penyebab ekor melepuh lobster air tawar *Cherax quadricarinatus*. Hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan E (30 ppm) memberikan rata-rata diameter daya hambat terbaik sebesar 15,33 mm, diikuti oleh perlakuan D (25 ppm) sebesar 14,33 mm dan C (20 ppm) sebesar 12,33 mm, kemudian perlakuan B (15 ppm) sebesar 14 mm dan perlakuan A (10 ppm) sebesar 13 mm. Berdasarkan analisis *polynomial orthogonal*, hubungan antara dosis gentamicin dengan diameter daya hambat berbentuk linier dengan persamaan $Y = 11,8 + 0,1X$ dengan $R^2 = 0,43$ dan $r = 0,65$. Semakin tinggi dosis gentamicin maka semakin tinggi daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* penyebab ekor melepuh. Pada dosis 30 ppm, gentamicin bersifat bakteriosidal.

Pengamatan histopatologi menunjukkan adanya perbedaan jaringan yang normal dan yang terinfeksi. Pada jaringan ekor lobster normal menunjukkan kumpulan sel yang masih utuh dengan inti sel yang terlihat jelas, begitu pula yang nampak pada jaringan hepatopankreas normal. Pada jaringan ekor yang terinfeksi mengalami nekrosis sel yang ditandai dengan hiperplasia. Sedangkan pada jaringan hepatopankreas yang terinfeksi menunjukkan nekrosis dengan ditandai adanya hipertrofi jaringan.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh dosis gentamicin terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* penyebab ekor melepuh pada lobster air tawar *Cherax quadricarinatus* secara *in vivo*.



DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Kegunaan Penelitian	3
1.5. Hipotesis	3
1.6. Tempat Dan Waktu.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Lobster Air Tawar (<i>Cherax quadricarinatus</i>)	5
2.1.1. Klasifikasi dan morfologi.....	5
2.1.2. Ekologi dan penyebaran	6
2.2. Identifikasi Bakteri	7
2.3. Uji Invitro	8
2.3.1. Uji MIC	8
2.3.2. Uji MBC	9
2.4. Ekor Melepuh Lobster Air tawar.....	9
2.5. Bakteri Penyebab Ekor Melepuh Lobster Air Tawar	10
2.6. Antibiotik	10
2.4.1. Gentamicin	11

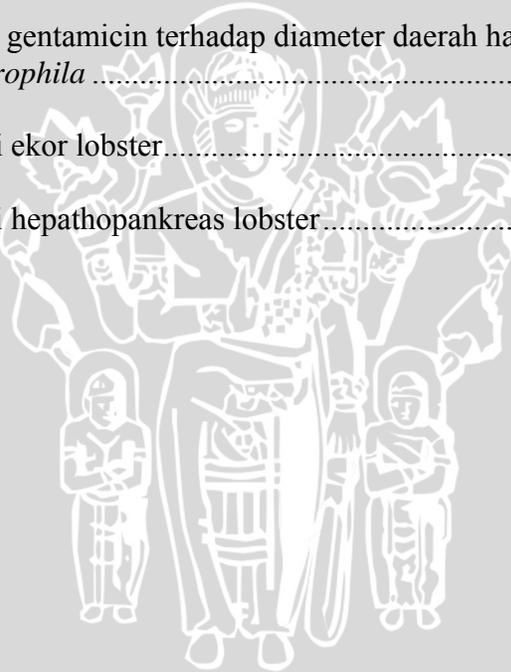
3. MATERI DAN METODE	13
3.1. Alat Dan Bahan	13
3.1.1. Alat	13
3.1.2. Bahan	13
3.2. Metode Dan Rancangan Penelitian	15
3.3. Prosedur Penelitian	15
3.3.1. Sterilisasi alat dan bahan	15
3.3.2. Penyiapan media	16
3.3.2.1. Media pengidentifikasian bakteri	16
3.3.2.2. Media uji invitro	20
3.4. Pelaksanaan Penelitian	21
3.4.1. Isolasi Dan Pemurnian Bakteri	21
3.4.2. Pengidentifikasian bakteri	23
3.4.2.1. Pengamatan morfologi koloni Bakteri	23
3.4.2.2. Pewarnaan gram	24
3.4.2.3. Pengujian biokimia	25
3.4.3. Uji Invitro	27
3.4.3.1 Uji pendahuluan	27
3.4.3.2. Uji MIC	29
3.4.3.3. Uji MBC	31
3.5. Parameter Uji	31
3.6. Analisa Data	31
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1. Identifikasi bakteri	32
4.1.1. Isolasi dan pemurnian bakteri	32
4.1.2. Pewarnaan gram	32
4.1.3 Uji biokimia	33
a. Uji Oksidase	33
b. Uji Katalase	34
c. Uji O/F	34
d. Uji TSIA	35

e. Uji LIA	35
f. Uji MIO	36
g. Uji gelatin	37
h. Uji gula	38
4.2. Uji Invitro	40
4.2.1 Uji pendahuluan.....	40
4.2.2. Uji MIC	42
4.2.3. Uji MBC	45
4.3. Lingkungan Hidup Bakteri.....	46
4.4. Histopatologi Jaringan Ekor Dan Hepatopankreas.....	47
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	50
5.1. Kesimpulan.....	50
5.2. Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	55



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi Lobster Air Tawar.....	6
2. Ekor lobster yang melepuh.....	9
3. Rumus Kimia Gentamicin.....	12
4. Grafik batang rata-rata diameter zona hambat gentamicin terhadap <i>Aeromonas hydrophila</i>	43
5. Grafik hubungan antara gentamicin terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	45
6. Perbedaan histopatologi ekor lobster.....	48
7. Perbedaan histopatologi hepathopankreas lobster.....	49



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pembuatan larutan uji pendahuluan.....	28
2. Pembuatan larutan uji MIC	29
3. Pembuatan larutan uji MBC	30
4. Uji oksidase	33
5. Uji katalase	34
6. Uji TSIA	35
7. Uji LIA	36
8. Uji MIO	36
9. Uji gula	38
10. Uji biokomia dalam Holt, <i>et al.</i> (1994)	39
11. Karakteristik Aeromonas menurut Popoff (1984) dalam Inglis <i>et al.</i> (1994) 40	
12. Diameter zona hambat uji pendahuluan	40
13. Diameter zona hambat pada berbagai antibiotik menurut Konemon <i>et al.</i> (1997) dalam Laminem (2007)	41
14. Diameter zona hambat uji MIC	42
15. Diameter zona hambat gentamicin menurut Konemon <i>et al.</i> (1997) dalam Laminem (2007)	43
16. Uji MBC	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
8. Bahan penelitian	55
9. Peralatan yang digunakan dalam penelitian	56
10. Isolasi dan pemurnian.....	58
11. Uji gram dan uji biokimia.....	59
12. Hasil identifikasi bakteri penyebab ekor melepuh pada lobster air tawar (<i>Cherax quadricarinatus</i>).....	67
13. Dosis gentamicin	68
14. Uji pendahuluan.....	69
15. Uji MIC	71
16. Uji MBC	72



BAB I

PENDAHULUAN

I. 1 Latar Belakang

Kebutuhan produk perikanan tiap tahun semakin meningkat, hal ini sejalan dengan semakin meningkatnya penduduk dunia. Kesadaran masyarakat untuk mengkonsumsi makanan yang bergizi juga terus bertambah. Kebutuhan akan makanan bergizi tersebut, dapat diperoleh dari hasil perikanan salah satunya yaitu lobster air tawar.

Permasalahan yang sering timbul dalam kegiatan budidaya adalah lingkungan yang kurang optimal bagi lobster dan timbulnya penyakit. Lingkungan lobster di wilayah Indonesia yang tersebar dengan karakteristik geografi suatu daerah yang berbeda-beda, sehingga lobster harus mengalami proses adaptasi terhadap lingkungan. Kondisi lingkungan yang optimal akan mempengaruhi kesehatan, pertumbuhan serta reproduksi lobster. Jika lingkungan tersebut kurang optimal, dapat menimbulkan penyakit. Seperti yang dikatakan oleh Taslihan (2004), penyakit pada budidaya udang dan ikan pada umumnya timbul apabila kondisi lingkungan tidak stabil.

Penyakit menurut Kordi (2004) adalah segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan pada ikan secara langsung maupun tidak langsung. Gangguan terhadap lobster dapat disebabkan oleh organisme lain, pakan, maupun kondisi lingkungan yang kurang menunjang kehidupan lobster. Dengan demikian timbulnya serangan penyakit lobster di kolam merupakan interaksi yang tidak seimbang antara inang, kondisi lingkungan dan organisme penyakit. Interaksi yang tidak seimbang ini dapat menyebabkan stres pada lobster, sehingga mekanisme pertahanan tubuh lobster menjadi lemah dan akhirnya mudah terserang penyakit.

Penyakit ekor melepuh termasuk salah satu penyakit yang dapat menimbulkan kerugian secara ekonomi. Serangan pada lobster baru diketahui di akhir tahun 2005. Kejadian itu diduga bermula dari Jawa Timur, lalu setahun kemudian merebak ke Jawa Barat dan Jakarta. Lobster yang terserang selalu menunjukkan gejala ekor melepuh (Trubus Online, 2006). Sebagai langkah awal dalam pengobatan, maka diperlukan pengidentifikasian bakteri yang menyebabkan ekor melepuh pada lobster air tawar.

Penanggulangan penyakit dapat dilakukan dengan cara pencegahan dan pengobatan. Pencegahan penyakit biasanya dilakukan dengan cara menciptakan lingkungan yang steril dan pemberian pakan yang bernilai gizi baik. Sedangkan pengobatan dilakukan pada saat lobster terserang penyakit, biasanya diberikan bahan kimia atau sejenisnya.

Mariyono dan Sundana (2002) mengatakan bahwa hingga kini, metode yang banyak digunakan untuk menanggulangi penyakit pada ikan budidaya adalah pengobatan menggunakan bahan kimia atau antibiotik. Cara ini sangat berisiko karena dapat menimbulkan resistensi terhadap bakteri, memerlukan biaya yang cukup mahal, serta dapat mencemari lingkungan. Oleh karena itu, untuk mengurangi dampak negatif residu bahan kimia atau antibiotik, diperlukan kecermatan penggunaan. Seperti yang diungkapkan oleh Taslihan (2004) bahwa aplikasi bahan kimia dan obat-obatan pengendali penyakit dapat dilakukan, namun demikian penggunaan obat-obatan terutama antibiotika harus dilakukan dengan jenis dan dosis yang tepat. Oleh karena itu, berdasarkan Keputusan Menteri Kelautan Dan Perikanan no: KEP.20/MEN/2003 tentang Klasifikasi Obat, terdapat beberapa antibiotik dimana gentamicin sebagai salah satu antibiotik yang boleh dipergunakan.

1.2 Perumusan Masalah

1. Jenis bakteri apa saja yang dapat menyebabkan penyakit ekor melepuh pada lobster air tawar *Cherax quadricarinatus*?
2. Bagaimana pengaruh daya hambat gentamicin terhadap bakteri penyebab ekor melepuh pada lobster air tawar *Cherax quadricarinatus*?
3. Bagaimana perbedaan jaringan ekor dan hepatopankreas lobster yang sehat maupun yang terinfeksi bakteri?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui:

1. Jenis-jenis bakteri yang dapat menyebabkan penyakit ekor melepuh pada lobster air tawar *Cherax quadricarinatus*.
2. Untuk mengetahui dosis gentamicin pada pengobatan secara invitro bakteri penyebab ekor melepuh pada lobster air tawar *Cherax quadricarinatus*.
3. Maupun untuk mengetahui jaringan ekor dan hepatopankreas pada lobster yang sehat dan yang sudah terinfeksi.

1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan sebagai informasi bagi para pengusaha dan petani ikan tentang antibiotik yang dapat dipakai untuk mengobati lobster air tawar yang terserang penyakit ekor melepuh.

1.5 Hipotesis

H_0 : Diduga pemberian gentamicin tidak mempengaruhi daya hambat bakteri penyebab ekor melepuh pada lobster air tawar secara invitro.

H₁ :Diduga pemberian gentamicin mempengaruhi daya hambat bakteri penyebab ekor melepuh pada lobster air tawar secara invitro.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada dua lokasi yaitu di Balai Karantina Ikan Juanda Surabaya pada tanggal 12-23 Maret 2007 kemudian dilanjutkan di laboratorium Parasit Dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya pada bulan April sampai Oktober 2007.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Lobster Air Tawar (*Cherax quadricarinatus*)

II.1.1. Klasifikasi Dan Morfologi

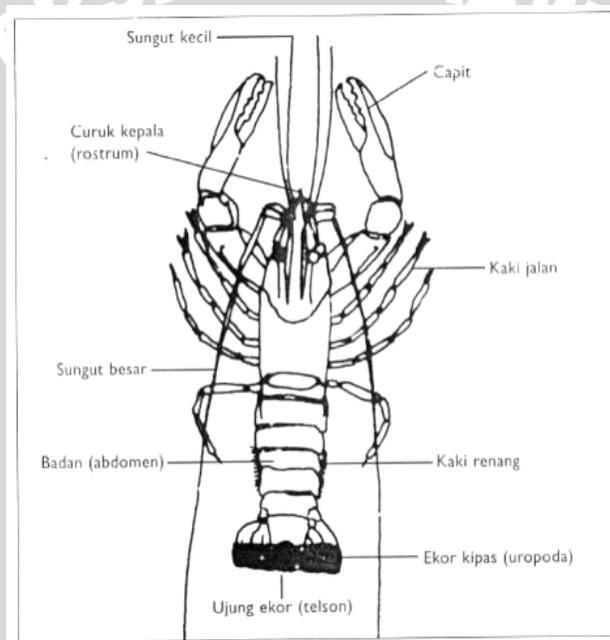
Menurut Wiyanto dan Hartono (2003), Genus *Cherax* memiliki sistematika sebagai berikut

Filum	: Arthropoda
Kelas	: Crustacea
Sub kelas	: Malacostraca
Ordo	: Decapoda
Famili	: Parastacidae
Genus	: <i>Cherax</i>
Spesies	: <i>Cherax quadricarinatus</i>

Menurut Wiyanto dan Hartono (2003), tubuh lobster beruas-ruas dan ditutupi oleh eksoskeleton yang terbuat dari *chitin*. Tubuh lobster terbagi menjadi dua bagian, yaitu bagian depan dan belakang. Bagian depan disebut *cephalothorax* yang artinya kepala-dada, bagian ini sebenarnya merupakan kepala dada yang menyatu (gambar 1). Pada bagian kepala lobster terdapat sepasang mata bertangkai, sepasang sungut besar (*antenna*), sepasang sungut kecil dan mulut. Pada bagian kepala juga terdapat lima pasang kaki (*periopod*), dari kaki pertama, kaki ke dua dan kaki ke tiga berubah bentuk dan fungsi menjadi capit (*chela*). Capit pertama ukuran paling besar, yang berfungsi sebagai alat untuk menangkap mangsa dan sebagai senjata dalam menghadapi lawan. Sementara capit ke dua dan ke tiga sebagai kaki jalan dan berfungsi

sebagai tangan untuk memasukkan makanan ke dalam mulut. Kaki ke empat dan ke lima berfungsi sebagai kaki jalan. Pada bagian ujung capit jantan, berwarna merah dan ukurannya lebih besar dibanding lobster betina. Oleh karena itu, lobster air tawar ini juga disebut sebagai red claw yang berarti capit merah.

Pada bagian belakang disebut *abdomen* yang terdiri badan dan ekor. Di bagian badan terdapat empat pasang kaki renang (*swimming legs*), dan bagian ekor terdiri dari ujung ekor atau (*telson*) dan ekor kipas (*uropoda*).



Gambar 1. Morfologi lobster air tawar. (Wiyanto dan Hartono, 2003).

II.1.2. Ekologi

Menurut Iskandar (2006), lobster air tawar *red claw* merupakan salah satu spesies endemik dari kelompok udang yang awalnya hidup di habitat alam, seperti sungai, rawa atau danau yang ada di kawasan Queensland, Australia. Selain sebagai lobster konsumsi, lobster ini juga bagus digunakan sebagai lobster hias karena memiliki warna tubuh yang bagus dan ukuran yang besar.

II.2. Identifikasi Bakteri

Brooks *et al.* (2001), mengatakan bahwa identifikasi secara praktis digunakan untuk:

1. Mengisolasi dan membedakan organisme yang diinginkan dari organisme yang tidak diinginkan
2. Menguji kebenaran atau keautentikan sifat-sifat khusus dalam suatu biakan dalam bidang medis
3. Dalam bidang medis digunakan untuk memisahkan dan mengidentifikasi suatu penyebab penyakit.

Masih berdasarkan sumber yang sama, sistem identifikasi yang ideal harus memuat sejumlah kecil sifat yang dibutuhkan untuk diagnosa yang benar. Grup dibagi ke dalam subgroup yang lebih kecil dengan sifat dasar adanya (+) atau tidak adanya (-) karakter diagnosa. Lanjutan proses dengan ciri yang berbeda menuntun penyelidik kepada subgroup organisme yang lebih kecil.

Sedangkan menurut Anonymous (2003a), identifikasi bakteri digunakan atas dasar sebagai berikut:

1. melakukan isolasi bakteri pathogen ke dalam biakan murni (*pure culture*)
2. mempelajari sifat bakteri koloni yang tumbuh
3. mempelajari morfologi dan sifat pewarnaan
4. mempelajari sifat biokimiawinya
5. mempelajari sifat reaksi serologisnya
6. mempelajari tipe bakteriofaganya
7. mempelajari sifat patogenitasnya terhadap hewan coba
8. mempelajari sifat-sifat resistensinya terhadap antibiotikanya.

II.3. Uji Invitro

Uji kepekaan bakteri terhadap obat-obatan secara invitro bertujuan untuk mengetahui obat antimikroba yang masih dapat digunakan untuk mengatasi infeksi oleh mikroba tersebut.

II.3.1. MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Konsentrasi minimum penghambatan atau lebih dikenal dengan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) adalah konsentrasi terendah dari antibiotika atau antimikrobal yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba tertentu. Nilai MIC adalah spesifik untuk tiap-tiap kombinasi dari antibiotika dan mikroba. (Greenwood, 1995 dalam Pratama, 2005).

Masih berdasarkan sumber yang sama, MIC dari sebuah antibiotika terhadap mikroba digunakan untuk mengetahui sensitivitas dari mikroba terhadap antibiotika. Nilai MIC berlawanan dengan sensitivitas mikroba yang diuji. Semakin besar nilai MIC dari sebuah antibiotika, sensitivitas dari bakteri akan semakin besar. Strain dari beberapa spesies mikroba adalah sangat berbeda dalam hal sensitivitasnya.

Metode uji antimikrobal yang sering digunakan adalah metode difusi lempeng agar. Uji ini dilakukan pada permukaan medium padat. Mikroba ditumbuhkan pada permukaan medium dan kertas saring yang berbentuk cakram yang telah mengandung mikroba. Setelah diinkubasi, diameter zona penghambatan diukur. Diameter zona penghambatan merupakan pengukuran MIC secara tidak langsung dari antibiotika terhadap mikroba.

II.3.2. MBC (*Minimum Bacterial Concentration*)

Uji MBC merupakan konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba. MBC ditentukan dengan cara melakukan subkultur dari tiap *tube* yang tidak terdapat pertumbuhan bakteri pada penentuan MIC pada medium padatan yang didalamnya tidak terdapat antibiotik. MIC dan MBC dalam

laboratorium biasanya digunakan untuk seleksi dalam kepekaan obat-obatan bakterisida melawan infeksi dan juga penentuan dosis obat yang tepat (Rollins dan Joseph, 2000).

II.4. Ekor Melepuh Lobster Air Tawar

Trubus online (2006) menyebutkan bahwa penyakit ekor melepuh pada lobster air tawar merupakan *haemorrhage* atau pendarahan. *Haemorrhage* ini yaitu terlepasnya darah dari pembuluh darah. Seperti yang dikatakan oleh Wijayanti (2004) bahwa *haemorrhage* pada vertebrata adalah terlepasnya darah dari pembuluh darah atau keluarnya darah pada bagian-bagian tertentu dari sistem sirkulasi. Sedangkan pada invertebrata yaitu dengan terlepas atau hilangnya *haemocyte* yang disebabkan oleh trauma jaringan, hancurnya sel-sel epitel, sel-sel darah keluar menembus dinding pembuluh darah. Jika keadaan ini berlangsung secara terus-menerus, dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang ditandai dengan adanya lepuhan pada ekor seperti yang terdapat pada gambar 2.



Gambar 2. Ekor lobster yang melepuh

II.5. Bakteri Penyebab Ekor Melepuh Lobster Air Tawar

Penyakit bakterial merupakan salah satu masalah serius yang harus dihadapi oleh para pembudidaya ikan atau udang. Penyakit tersebut dapat menimbulkan kerugian yang tidak sedikit. Seperti yang dialami oleh Santoso dalam Trubus online (2006), akibat kerugian masal,

FX Santoso selaku pemilik Santoso Farm membawa sampel lobster dan air yang diujikan di laboratorium FKH Universitas Airlangga. Dari hasil uji tersebut diketahui bahwa penyebab penyakit ekor melepuh pada lobster air tawar adalah bakteri *Aeromonas sp* dan *Salmonella sp* dimana bakteri *Aeromonas sp* yang lebih dominan. Inggris (1996) juga mengatakan bahwa bakteri yang dapat menyebabkan penyakit *haemorrhagic septicaemia* pada ikan air tawar yaitu *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae*, dan *A. sobria*.

II.6. Antibiotik

Antibiotik adalah senyawa alami maupun sintetik, yang mempunyai efek menekan atau menghentikan suatu proses metabolisme di dalam [organisme](#), khususnya dalam proses [infeksi](#) oleh [bakteri](#) atau [virus](#). Antibiotik bekerja dengan menekan atau memutus suatu mata rantai metabolisme. Keefektifan antibiotik bergantung pada lokasi infeksi dan kemampuan antibiotik mencapai lokasi tersebut. Antibiotik dapat digolongkan berdasarkan sasaran kerja senyawa tersebut dan susunan kimianya. Wikipedia (2007a), antibiotik dapat dibedakan berdasarkan sasaran kerja organ targetnya yaitu:

1. [Inhibitor sintesis dinding sel bakteri](#), mencakup golongan Penicillin, Polypeptide dan Cephalosporin, misalnya [ampicillin](#), [penicillin G](#);
2. Inhibitor [transkripsi](#) dan [replikasi](#), mencakup golongan Quinolone, misalnya [rifampicin](#), [actinomycin D](#), [nalidixic acid](#);
3. Inhibitor [sintesis protein](#), mencakup banyak jenis antibiotik, terutama dari golongan Macrolid, Aminoglikosida, dan Tetracyclin, misalnya [gentamycin](#), [chloramphenicol](#), [kanamycin](#), [streptomycin](#), [tetracycline](#), [oxytetracycline](#);
4. Inhibitor fungsi membrane sel, misalnya [ionomycin](#), [valinomycin](#);

5. Inhibitor fungsi sel lainnya, seperti golongan sulfa atau [sulfonamida](#), misalnya [oligomycin](#), [tunicamycin](#); dan
6. [Antimetabolit](#), misalnya *azaserine*.

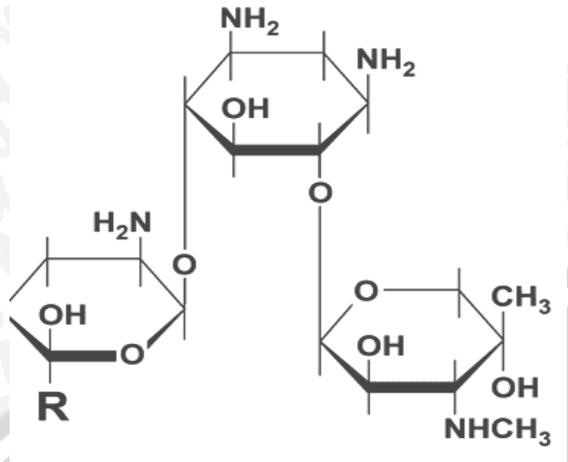
Sedangkan menurut Yim (2007), antibiotik bekerja sedikitnya menurut lima buah cara, yakni dengan :

1. Menghambat sintesis asam nukleat, misalnya *rifampicin*; *chloroquine*
2. Menghambat sintesis protein, misalnya *tetracyclines*; *chloramphenicol*
3. Beraksi pada permukaan membran sel, misalnya *polyenes*; *polymyxin*
4. Menginterferensi sistem kerja enzim, misalnya *sulphamethoxazole*
5. Berikatan dengan dinding sel, misalnya *penicillin*; *vancomycin*.

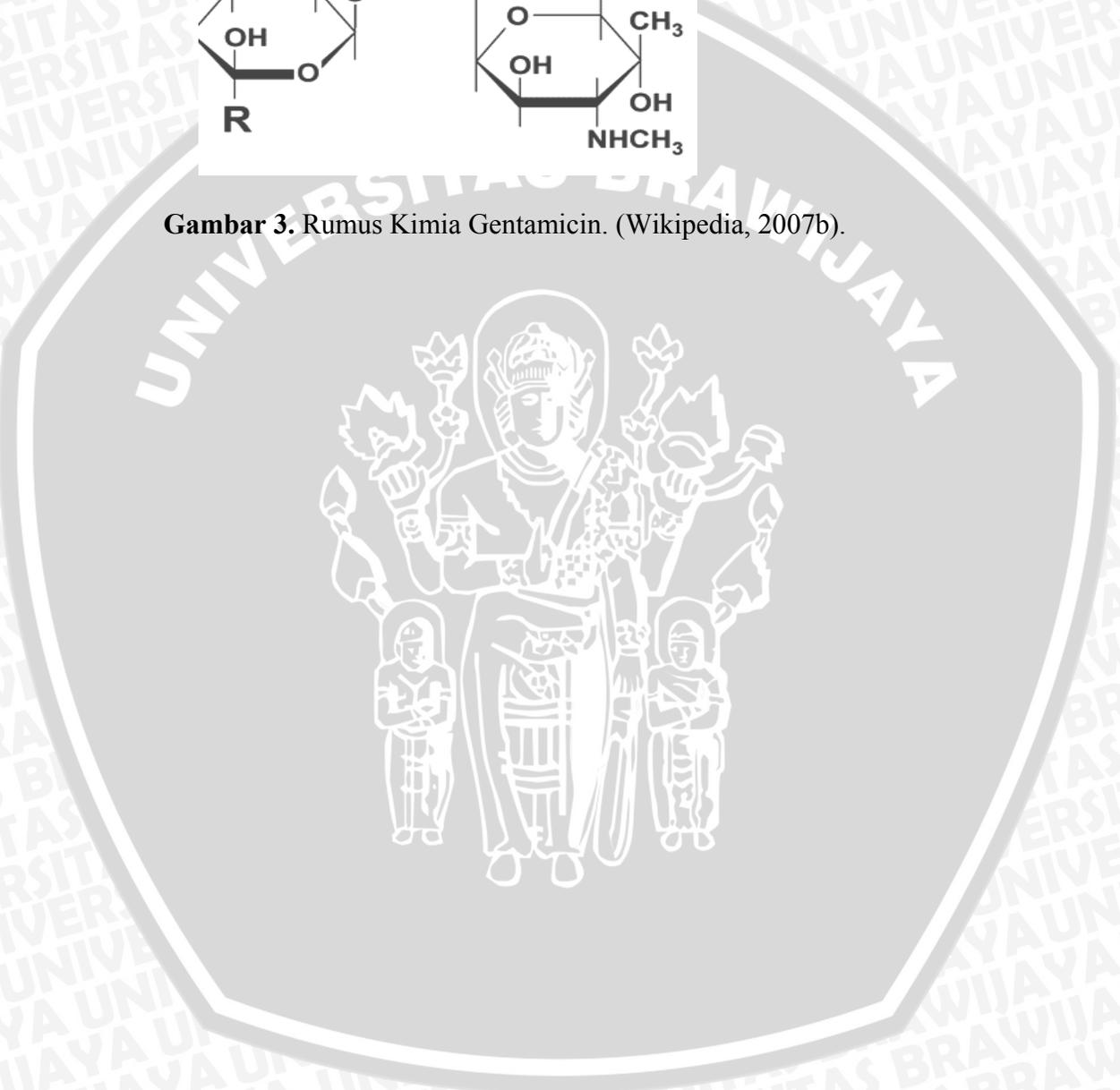
II.6.1. Gentamicin

Gentamicin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida dimana merupakan senyawa dengan aktivitas spektrum yang luas terhadap banyak spesies bakteri. Gentamicin diproduksi oleh mikroorganisme genus *Streptomyces* dan *Micronospora* (Edberg dan Berger, 1986). Selain gentamicin, golongan aminoglikosida antara lain yaitu: kanamisin, amikasin, netilmisin, dan tobramisin. Gentamicin digunakan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram negatif yang telah kebal terhadap obat lain. Mekanisme kerja anti bakteri aminoglikosida yaitu dengan transport aktif melalui membran sitoplasma dan terikat pada ribosom bakteri.

Gentamicin termasuk aminoglikosida yang mempunyai bahan aktif glikopeptida. Yang membedakan gentamicin dengan aminoglikosida lainnya adalah adanya gugus alkil NHCH_3 . Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Rumus Kimia Gentamicin. (Wikipedia, 2007b).



BAB III

MATERI DAN METODE

3.1 Materi dan Bahan Penelitian

3.1.1 Alat

- | | |
|---------------------|----------------------|
| - Cawan Petri | - Tabung reaksi |
| - Erlemeyer | - Gelas ukur |
| - Pipet tetes | - Jarum ose |
| - Bunsen | - Inkubator |
| - Autoklaf | - Penggaris |
| - Pipet ukur | - Pinset |
| - Karet hisap | - Lemari pendingin |
| - Kompur | - Timbangan analitik |
| - Triangel | - Beaker glass |
| - Botol | - Spatula |
| - Laminary air flow | - Vortex |
| - Hotplate | - Sectio set |
| - Mikroskop | - Obyek glass |
| - Sprayer | |

3.1.2. Bahan

- Gentamicin
- *Red claw* yang terserang penyakit ekor melepuh

- Air asal sampel
- Biakan murni bakteri penyebab ekor melepuh
- TSA (*Tryptic Soy Agar*)
- NB (*Nutrien Broth*)
- Aquadest
- Alkohol
- Kertas cakram
- pH meter/ kertas lakmus
- Tissue
- Kapas
- Kertas cakram
- Kertas alumunium foil
- Spirtus
- Gram A, B, C dan D
- Kertas oksidase yang bermerek MERCK
- H₂O₂ sebagai medium uji katalase
- Media Oksidase/Fermentatif
- Media TSIA (*Tryptic Soy Iron Agar*)
- Media MIO
- Media gelatin
- Media uji gula yang terdiri dari glukosa, laktosa, sukrosa, manitol, inositol, arabinosa
- Media LIA

- Konvaks
- Parafin
- Parafilm

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif. Menurut Suryabrata (1994), metode deskriptif adalah suatu metode yang menggambarkan keadaan atau kejadian-kejadian pada suatu daerah tertentu. Pembacaan hasil identifikasi dilakukan dengan menganalisa hasil perubahan hasil uji pada media. Pada uji invitro dilakukan pembacaan dengan cara sampling pada ulangan tiap cawan dengan mengukur daerah hambatan sekitar kertas cakram yang memperlihatkan tidak adanya pertumbuhan bakteri.

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Sterilisasi alat dan bahan

Menurut Dwijoseputro (1987), sterilisasi alat meliputi:

- Alat yang digunakan dibungkus dengan kertas koran kemudian diikat dengan benang
- Air dituang secukupnya ke dalam autoklaf, kemudian alat yang telah dibungkus kertas perkamen dimasukkan ke dalam autoklaf dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara silang
- Kompor pemanas dinyalakan kemudian beberapa saat monometer akan menunjukkan angka 1 atm, jika terjadi kelebihan tekanan buka kran udara hingga monometer menunjukkan angka 1 kembali.
- Keadaan tekanan uap jenuh dapat terjadi berulang kali sampai 121°C dan monometer menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit.

- Kompor dimatikan dan kran dibuka untuk mengurangi tekanan, tunggu beberapa saat sampai termometer dan manometer menunjukkan angka 0 (nol) lalu buka penutup autoclave.
- Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil
- Alat yang telah disterilkan, disimpan dalam inkubator, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

3.3.2. Penyiapan media.

3.3.2.1. Media pengidentifikasian bakteri

Media - media yang digunakan untuk pengidentifikasian bakteri penyebab ekor melepuh lobster air tawar *Cherax quadricarinatus* adalah media yang digunakan secara komersial.

1. TSA (Tryptic Soya Agar) dari DIFCO, France

- TSA sejumlah 40 gram dilarutkan dalam erlenmeyer dengan aquadest steril 1 liter
- Didihkan sambil diaduk hingga larut sempurna, warna menjadi bening kekuningan.
- Ditutup dengan kertas perkamen, kertas bekas dan dirapatkan dengan tali
- Kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit.
- Setelah itu ditunggu hingga hangat dan dituangkan dalam cawan petri steril secara aseptis.
- Media ditunggu hingga padat kemudian disimpan dalam lemari kulkas jika tidak langsung dipakai.

2. Oksidase

Media yang digunakan adalah kertas oksidase dengan merek MERCK dari Germany.

3. Katalase

Media yang digunakan adalah reagen H₂O₂ 3%.

4. TSIA (*Tryptic Soy Iron Agar*) dari DIFCO, France

- TSIA sebanyak 65 gram dilarutkan dalam erlenmeyer dengan aquadest steril 1 liter.
- Dididihkan hingga larut kemudian ditutup dengan kertas perkamen, kertas bekas dan dirapatkan dengan tali.
- Media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 C selama 15 menit
- Setelah itu ditunggu hingga hangat dan dituangkan pada tabung reaksi dan dimiringkan
- Media ditunggu hingga padat kemudian disimpan dalam lemari kulkas jika tidak langsung dipakai.

5. MIO (*Motility Indol Ornithine*) dari DIFCO, France

- MIO dengan dosis 31 gram dilarutkan dalam erlenmeyer dengan 1 liter aquadet steril dalam beaker glass 500 ml.
- Dididihkan hinga bahan larut.
- Media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 C selama 15 menit.
- Setelah steril didinginkan hingga hangat kemudian ditungkan ke dalam tabung reaksi.
- Media ditunggu hingga padat kemudian disimpan dalam lemari kulkas jika tidak langsung dipakai.

6. Gelatin dari DIFCO, France

- Gelatin dengan dosis 128 gram dilarutkan dalam erlenmeyer dengan 1 liter aquadest steril.
- Dididihkan hinga bahan larut sambil diaduk dengan spatula
- Media disterilkan pada suhu 121 C selama 15 menit dalam autoklaf
- Setelah steril didinginkan hingga hangat kemudian ditungkan ke dalam tabung reaksi.

- Media ditunggu hingga padat kemudian disimpan dalam lemari kulkas jika tidak langsung dipakai.

7. LIA (*Lysine Iron agar*) dari OXOID, England

- LIA dengan dosis 32 gram dilarutkan dalam erlenmeyer dengan 1 liter aquadest steril.
- Dididihkan hingga bahan larut sambil diaduk dengan spatula
- Media disterilkan pada suhu 121 C selama 15 menit dalam autoklaf
- Setelah steril didinginkan hingga hangat kemudian ditungkan ke dalam tabung reaksi dan dimiringkan
- Media ditunggu hingga padat kemudian disimpan dalam lemari kulkas jika tidak langsung dipakai.

8. O/F (Oksidasi-Fermentasi) dari DIFCO, France

- Media ditimbang 11 gram dilarutkan dalam erlenmeyer dengan 1 liter aquadest steril.
- Ditambahkan dengan glukosa 10 %.
- Dididihkan hingga larut sambil diaduk dengan spatula
- Media disterilkan pada suhu 121 C selama 15 menit dalam autoklaf. Setelah steril didinginkan hingga hangat kemudian ditungkan ke dalam tabung reaksi
- Media ditunggu hingga padat kemudian disimpan dalam lemari kulkas jika tidak langsung dipakai.

9. Media uji gula (glukosa, lakstosa, sukrosa, manitol, inositol, arabinosa) dari MERCK, Jerman.

- Peptone dengan dosis 15 gram dilarutkan dalam erlenmeyer dengan aquadest steril 1 liter.
- Ditambahkan phenol red 0,018 gram

- Dididihkan hingga larut sambil diaduk dengan spatula
- Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 C selama 15 menit
- Setelah steril, didinginkan hingga hangat kemudian dituangkan ke dalam tabung reaksi.
- Ditambahkan masing-masing media gula sesuai dengan media uji sebanyak 1 gram pada tiap tabung reaksi.
- Diaduk dengan vortex.
- Media yang tidak langsung digunakan ditaruh pada kulkas.

10. Pewarnaan gram

a. Gram A

- Ditimbang 2 gram kristal violet, ammonium oksalat 0,5 gram.
- Ditambahkan 20 ml alcohol 95 % lalu dilarutkan dalam 80 ml aquadest steril.
- Diaduk hingga larut.

b. Gram B

- Ditimbang 1 gram iodin dan 2 gram iodida.
- dilarutkan dalam 300 ml aquadest steril.
- Diaduk hingga rata.

c. Gram C

Bahan media gram C adalah alcohol 95 % .

d. Gram D

- Ditimbang safranin sebanyak 0,25 gram.
- Ditambahkan etanol 95 % sebanyak 20 ml lalu dilarutkan dalam 90 ml aquadest steril.

- Diaduk hingga rata.

3.3.2.2. Media Uji Invitro

1. Tryptic Soy Agar (TSA) dari OXOID England

- TSA 40 gram dilarutkan dalam 1 liter air aquadest steril dalam erlenmeyer steril
- Didihkan sambil diaduk hingga larut sempurna, warna menjadi bening.
- Larutan TSA dan erlenmeyer yang sudah ditutup dengan kapas dan kertas perkamen kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
- Setelah itu dalam keadaan hangat dituang dalam cawan petri steril ± 10 ml, penuangan dilakukan di dekat bunsen, cawan petri dipanaskan kembali setelah penuangan selesai.
- Media dibiarkan memadat
- Media yang tidak langsung digunakan disimpan dalam lemari es. Cawan Petri diletakkan terbalik yaitu bagian tutup berada di bawah untuk menghindari tetesan air kondensasi dari tutup.
- Media dari lemari es apabila ingin digunakan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, sehingga suhu media sama dengan suhu lingkungan dan untuk melihat apakah tidak ada kontaminasi pada media.

2. Nutrien Broth (NB) dari OXOID England

- NB sejumlah 13 gram dilarutkan dalam erlenmeyer dengan aquadest steril 1 liter kemudian diaduk hingga larut sempurna dan berwarna bening.
- Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan kertas kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
- Media yang akan dipakai dibiarkan dingin hingga mempunyai suhu 30°C karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas.

- Media yang tidak langsung digunakan disimpan dalam lemari es sehingga mampu bertahan lama.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Isolasi dan pemurnian bakteri

Menurut Supriyadi (2006), untuk dapat melaksanakan pengidentifikasian bakteri, dilakukan terlebih dahulu pengisolasian patogen dari tubuh inang yang terinfeksi. Pengisolasian dilakukan pada bagian luka dan hepatopankreas. Isolasi dapat dilakukan pada media umum maupun selektif. Setelah berhasil mengisolasi bakteri, dilakukan pemurnian bakteri.

a. Isolasi

- Langkah yang pertama yaitu mematikan lobster dengan menusuk pada bagian *medulla oblongata*.
- Digunting bagian eksternal lobster yaitu pada ekor yang melepuh menggunakan *section set*.
- Ditusuk dengan menggunakan jarum ose secara aseptis pada bagian ekor yang melepuh.
- Diisolasi pada media TSA secara aseptis
- Digunting bagian internal lobster yang diduga sebagai tempat serangan internal oleh bakteri yaitu bagian hepatopankreas.
- Digunting menggunakan section set pada bagian bawah karapaks *cephalothorax* secara vertikal hingga ke bagian karapaks dada.
- Digunting ke dua bagian pinggir *cephalothorax* samping kaki jalan untuk memudahkan pembukaan karapaks *cephalothorax*.

- Karapaks dibuka dicari bagian hepathopankreas sebagai organ internal yang diduga terserang bakteri.
- Diambil dengan jarum ose secara aseptis dan diisolasi pada media TSA.
- Peralatan yang digunakan pada setiap perlakuan harus dicuci dahulu, disemprot alkohol dan dikeringkan dengan tisu. Hal ini ditujukan untuk mengurangi terjadinya kontaminasi

b. Pemurnian bakteri

- Disiapkan media TSA.
- Jarum ose dipijarkan diatas Bunsen.
- Diambil koloni bakteri hasil isolasi, digoreskan secara aseptis.
- Penggoresan diusahakan rapat antar goresan.
- Dibiarkan pada suhu ruangan selama 24 jam. Setelah 24 jam ditaruh kulkas.

3.4.2 Pengidentifikasian bakteri

3.4.2.1 Pengamatan morfologi koloni bakteri

Supriyadi (2006) mengatakan bahwa langkah pengamatan morfologi koloni bakteri setelah didapatkan biakan murni, kemudian diamati bentuk koloninya meliputi warna, bentuk, tepian, elevasi dan struktur dalam.

- Bentuk koloni bakteri yaitu: bundar, bundar dengan tepian kerang, bundar dengan tepian timbul, keriput, konsentris, tak beraturan dan menyebar, berbenang-benang, bentuk L, bundar dengan tepian menyebar, filiform, rizoid, dan kompleks.
- Tepian koloni bakteri yaitu: licin, berombak, berlekuk, tak beraturan, siliat, bercabang, seperti wol, seperti benang, dan seperti ikal rambut.

- Elevasi koloni bakteri yaitu: datar, timbul, cembung, seperti tetesan, seperti tombol, berbukit-bukit, tumbuh ke dalam medium dan seperti kawah.
- Struktur dalam bakteri yaitu: transparan, *translucent* (meneruskan sinar walaupun di bawahnya tidak terlihat dengan jelas), *opaque*(tidak dapat ditembus cahaya), *smooth* (licin/rata), *finely granular* (butiran yang halus), *coarsely granular* (butiran yang kasar), *wavy enterlaced* (tali yang berombak), *filamentous* (menyerupai filament-filamen), *arborescent* (menyerupai pohon yang bercabang-cabang).

3.4.2.2 Pewarnaan gram

Metode pewarnaan gram menurut Hadiutomo (1985), adalah sebagai berikut:

- Disiapkan gelas benda, biakan murni bakteri dan media pewarnaan yang terdiri dari Gram A, Gram B, Gram C dan Gram D.
- Dibuat fiksasi bakteri dengan cara
 - Jarum ose dipijarkan diatas Bunsen, diambil inokulum bakteri secara aseptis.
 - Ditaruh pada obyek glass, ditambahkan 1-2 tetes aquadest.
 - Ditipiskan dengan jarum ose.
 - Dipanaskan diatas bunsen agar cepat mengering.
- Suspensi bakteri pada obyek glass, ditetesi dengan gram A sebanyak 2-3 tetes.
- Dibiarkan selama 1 menit.
- Dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan.
- Ditetesi dengan gram B sebanyak 2-3 tetes.
- Dibiarkan selama 1 menit.
- Dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan.
- Ditetesi dengan gram C sebanyak 1-2 tetes.

- Dibiarkan selama 30 detik.
- Dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan.
- Ditetesi dengan gram D sebanyak 2-3 tetes.
- Dibiarkan selama 2 menit.
- Dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan.
- Hasil preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000X.

3.4.2.3. Pengujian biokimia

Metode pengujian yang dilakukan di laboratorium HPI Stasiun Karantina Ikan Kelas I Juanda-Surabaya adalah metode konvensional, yang mengacu pada Mac Faddin (1983).

Pengujian tersebut meliputi:

a. Uji oksidase

Uji oksidase menggunakan kertas oksidase, MERCK. Biakan bakteri yang diambil dengan jarum ose digoreskan pada kertas oksidase tersebut, lalu diamati perubahan warna yang terjadi.

b. Uji katalase

Reagen yang digunakan pada uji katalase yaitu H_2O_2 3%. Biakan bakteri diambil secara aseptis menggunakan jarum ose pada *obyek glass*. Reagen tersebut ditetaskan sebanyak 2-3 tetes pada biakan bakteri dan diamati perubahan yang terjadi dengan ada atau tidak adanya gelembung gas.

c. Uji O/F

- Disiapkan 2 tabung reaksi yang berisi media O/F dan biakan murni bakteri.
- Jarum ose dipijarkan diatas bunsen.
- Diambil biakan murni bakteri secara aseptis.

- Ditusukkan pada media O/F.
- Diinkubasi selama 24 jam.
- Jarum ose dipijarkan diatas bunsen.
- Diambil biakan murni bakteri secara septis lalu ditusukan pada media O/F.
- Ditutup dengan diberi parafin cair 2-3 tetes (\pm 2 cm).
- Diinkubasi selama 24 jam.

d. Uji TSIA

- Disiapkan tabung reaksi media TSIA dan biakan murni bakteri.
- Diambil inokulum kultur murni bakteri menggunakan jarum ose secara aseptis.
- Diinokulasikan dengan cara tusukan (*butt*) pada agar vertikal dan goresan miring (*slan*).
- Diinkubasi selama 24 jam.
- Diamati perubahan yang terjadi.

e. MIO

- Disiapkan tabung reaksi yang berisi media MIO dan biakan murni bakteri.
- Diambil inokulum bakteri menggunakan jarum ose secara aseptis.
- Diinokulasikan secara tusukan tegak.
- Diinkubasi selama 24 jam.
- Diamati perubahan warna yang terjadi pada perubahan warna di sekitar tusukan dan perubahan setelah diberi 2 tetes kovaks.

f. Gelatin

- Diambil tabung reaksi yang berisi media gelatin dan biakan murni bakteri.
- Diambil inokulum bakteri menggunakan jarum ose secara aseptis.

- Diinokulasikan pada media gelatin.
- Diinkubasi selama 24 jam.
- Diamati perubahan yang terjadi dengan merendam pada suhu 18°C selama 15 menit.

g. Uji gula (glukosa, laktosa, sukrosa, manitol, inositol, arabinosa)

- Disiapkan media gula (glukosa, laktosa, sukrosa, manitol, inositol, arabinosa) dan biakan murni bakteri.
- Diambil inokulasi bakteri menggunakan jarum ose secara aseptis.
- Diinokulasikan pada masing-masing tabung media gula.
- Diinkubasi selama 24 jam.
- Diamati perubahan warna yang terjadi pada masing-masing uji gula.

h. Uji LIA

- Disiapkan tabung reaksi yang berisi media LIA dan biakan murni bakteri.
- Diambil inokulasi bakteri menggunakan jarum ose secara aseptis.
- Diinokulasikan dengan cara tusukan pada agar vertikal dan goresan miring.
- Diinkubasi selama 24 jam.

3.4.3. Uji Invitro

3.4.3.1. Uji pendahuluan

Uji pendahuluan merupakan suatu langkah awal dalam penentuan dosis yang akan digunakan dalam uji invitro. Kisaran yang dipergunakan yaitu dari dosis 0 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm, 90 ppm, hingga dosis 100 ppm.

Pada uji ini menggunakan metode difusi agar. Adapun menurut Laminem (2007), metode difusi agar sebagai berikut:

- Biakan murni bakteri penyebab ekor melepuh *red claw* ditanam sebanyak 5 inokulum ke dalam 5 ml media cair (NB) dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam sehingga terbentuk kekeruhan standar Mc Farland (10⁶ sel/ml).
- Dibuat larutan stok obat dengan dosis 100 ppm dalam 100 ml aquadest.
- Disiapkan tabung reaksi steril untuk perlakuan dosis gentamicin. Perlakuan dilakukan dengan pengenceran dengan dosis 0 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm, 90 ppm, 100 ppm. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Dosis larutan uji pendahuluan

Volume aquades (ml)	Larutan antibiotik 100 ppm (ml)	Konsentrasi akhir (ppm)
10	0	0 (kontrol)
9	1	10
8	2	20
7	3	30
6	4	40
5	5	50
4	6	60
3	7	70
2	8	80
1	9	90
0	10	100 (kontrol)

- Masing-masing dilarutkan dengan aquadest steril hingga terbentuk 10 ml larutan.
- Kertas cakram dicelupkan ke dalam masing-masing dosis.
- Ditiriskan selama ± 5 menit.
- Cawan Petri yang telah berisi media padat ditaburkan 0,1 ml bakteri (10⁶ sel/ml).

- Kertas cakram yang sudah ditiriskan diletakkan diatas taburan bakteri dalam media padat.
- Pembacaan hasil dilakukan setelah diinkubasi pada suhu 35C selama 18-24 jam dengan cara mengukur daerah hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram.
- Diukur diameter masing-masing zona hambatan.

3.4.3.2. Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Dosis uji MIC yang dipakai berdasarkan uji pendahuluan. Metode yang digunakan dalam uji ini yaitu metode difusi. Adapun menurut Laminem (2007), metode difusi agar sebagai berikut:

- Biakan murni bakteri penyebab ekor melepuh *red claw* ditanam sebanyak 5 inokulum ke dalam 5 ml media cair (NB) dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam sehingga terbentuk kekeruhan standar Mc Farland (10⁶ sel/ml).
- Dibuat larutan stok obat dengan dosis 100 ppm dalam 100 ml aquadest.

Disiapkan tabung reaksi steril untuk perlakuan dosis gentamicin. Perlakuan dilakukan dengan pengenceran dengan dosis 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 30 ppm. Untuk lebih jelasnya, dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Dosis larutan uji MIC

Volume aquades (ml)	Larutan antibiotik 100 ppm (ml)	Konsentrasi akhir (ppm)
9	1	10
8,5	1,5	15
8	2	20
7,5	2,5	25
7	3	30

- Masing-masing dilarutkan dengan aquadest steril hingga terbentuk 10 ml larutan.

- Kertas cakram dicelupkan ke dalam masing-masing dosis.
- Ditiriskan selama ± 5 menit.
- Cawan Petri yang telah berisi media padat ditaburkan 0,1 ml bakteri (10^6 sel/ml).
- Kertas cakram yang sudah ditiriskan diletakkan diatas taburan bakteri dalam media padat.
- Pembacaan hasil dilakukan setelah diinkubasi pada suhu 35C selama 18-24 jam dengan cara mengukur daerah hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram.
- Diukur diameter masing-masing zona hambatan.

3.4.3.3. Uji MBC (*Minimum Bacterial Concentration*)

Uji MBC adalah uji lanjutan dari MIC untuk mengetahui kematian bakteri dalam uji invitro. Uji MBC tersebut menurut Rollins dan Joseph (2000) sebagai berikut:

- Biakan murni bakteri penyebab ekor melepuh *red claw* ditanam sebanyak 5 inokulum ke dalam 5 ml media cair (NB) dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam sehingga terbentuk kekeruhan standar Mc Farland (10^8 sel/ml).
- Dibuat larutan stok obat dengan dosis 100 ppm dalam 100 ml aquadest.
- Disiapkan 5 tabung reaksi steril untuk pengenceran dosis obat 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 30 ppm. Untuk lebih jelasnya, dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Dosis larutan Uji MBC

Volume media NB (ml)	Larutan antibiotik 100 ppm (ml)	Konsentrasi akhir (ppm)
9	1	10
8.5	1.5	15
8	2	20
7.5	2.5	25
7	3	30

- Masing-masing tabung diinokulasikan 0,1 ml bakteri (10^6 sel/ml).
- Divortek hingga tercampur
- Masing-masing campuran ditabur sebanyak 0,1 ml dalam media agar
- Pembacaan hasil dilakukan setelah diinkubasi pada suhu 35C selama 18-24 jam. Jika tumbuh bakteri berarti bahwa dosis obat tersebut bersifat bakteriostatik. Akan tetapi jika bakteri tidak tumbuh berarti bahwa dosis obat tersebut bersifat bakteriosidal.

3.5 Parameter Uji

Parameter uji adalah diameter daerah hambatan yang terlihat di sekitar kertas cakram dalam millimeter sebagai parameter utama. Sedangkan untuk parameter penunjang adalah pH media uji invitro, dan histopatologi.

3.6 Analisa Data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur maka digunakan analisa keragaman atau uji F dan jika didapat hasil berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perlakuan mana yang memberikan respon terbaik pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%). Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan hasil yang dipengaruhi, dilakukan perhitungan analisa regresi yang bertujuan untuk menentukan sifat dari fungsi regresi yang memberikan keterangan tentang pengaruh perlakuan pada respon.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Identifikasi Bakteri

4.1.1. Isolasi Dan Pemurnian Bakteri

Sampel yang digunakan sebanyak 2 ekor lobster air tawar yang sudah mengalami penyakit ekor melepuh. Pengamatan eksternal ditandai dengan lepuhan pada bagian abdomen ekor. Isolasi diambil pada bagian ekor tersebut dan pada bagian organ dalam yaitu hepatopankreas. Pada bagian ekor lobster 1 dinotasikan dengan LBS1 ek (lobster 1 ekor), bagian hepatopankreas dinotasikan dengan LBS1 hp (lobster 1 hepatopankreas), demikian juga pada lobster kedua. Sumber isolasi adalah semua bagian tubuh yang mengalami kelainan patologi yang disebabkan oleh penyakit bakterial pada bagian tubuh eksternal maupun internal. Selain pada bagian ekor juga diambil pada sampel air. Isolasi pada bagian lobster dilakukan dengan metode streak pada media TSA. Sedangkan pada sampel air diisolasi dengan metode sebar. Kemudian diinkubasi selama 24 jam (Anonymous, 2003b).

Pembacaan hasil isolasi yaitu dengan mengamati morfologi koloninya meliputi warna, bentuk elevasi, tepian, dan struktur dalam. Hasil isolasi lobster 1, 2 dan sampel air menunjukkan bahwa koloninya berwarna krem, bentuk elevasi cembung dengan tepian rata dan struktur dalam transparan.

4.1.2. Pewarnaan Gram

Hasil pemurnian, diambil secara aseptis menggunakan ose dan difiksasi pada *obyek glass* diatas bunsen. Fiksasi dilakukan untuk mempermudah pengamatan dari penumpukan koloni bakteri. Menurut Hadiutomo (1985), sebelum dilakukan pewarnaan gram dilakukan fiksasi

terhadap bakteri. Kegunaan dari fiksasi diantaranya yaitu untuk mencegah mengkerutnya globula-globula protein sel, merubah afinitas cat, membunuh bakteri secara cepat dengan tidak menyebabkan perubahan bentuk dan strukturnya, melekatkan bakteri diatas gelas benda dan membuat sel-sel lebih kuat. Hasil pewarnaan gram semua sampel menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif yang ditandai dengan warna merah muda dan berbentuk batang pendek. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada lampiran 5.

4.1.3. Uji Biokimia.

a. Uji oksidase

Berdasarkan hasil uji oksidase dari biakan murni yang diambil dengan jarum ose, pada kertas oksidase menunjukkan terjadinya perubahan warna pada kertas yaitu dari yang semula putih menjadi biru (tabel 4). Akan tetapi pada LBS1 hp, perubahan warna terjadi agak lama. Dari perubahan warna tersebut dapat dikatakan bahwa hasil oksidase uji yaitu positif. Seperti yang dikatakan oleh Mac Faddin (1983), dikatakan positif jika terjadi perubahan warna selama 5 hingga 10 detik. Warna biru pada kertas oksidase disebabkan karena adanya perubahan reagen yang terkandung dalam kertas yaitu dari reagen tetrametyl-p-phenylenediamine menjadi *indophenol blue* yang menyebabkan kertas berwarna biru. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada lampiran 5 sedangkan hasil uji oksidase disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Uji oksidase

Uji	LBS1 Ek	LBS1 Hp	LBS2 Ek	LBS2 Hp	Air 1	Air 2
oksidase	+	+	+	+	+	+

b. Uji katalase

Pada uji katalase digunakan reagen H₂O₂ 3%. Hal ini ditujukan untuk mengetahui aktifitas enzim katalase dalam memecah H₂O₂, yang ditandai dengan adanya pembentukan gelembung

gas. Hasil uji menunjukkan bahwa semua sampel menunjukkan katalase positif seperti yang terdapat pada tabel 5. Mac Faddin (1983) mengatakan bahwa reaksi oksidase positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung-gelembung oksigen. Gas O₂ yang dihasilkan berasal dari perombakan H₂O₂ oleh enzim katalase menjadi O₂ sebagaimana yang terdapat dalam Anonymous (2004):



Tabel 5. Uji katalase

Uji	LBS1 Ek	LBS1 Hp	LBS2 Ek	LBS2 Hp	Air 1	Air 2
katalase	+	+	+	+	+	+

c. Uji O/F (Oksidatif/Fermentatif).

Pada uji O/F digunakan 2 media sebagai pembanding aerob atau anaerob. Dimana kondisi anaerob yaitu dengan menutup parafin pada permukaan media. Sedangkan kondisi aerob yaitu dengan tidak menutup parafin pada permukaan media. Semua hasil uji, pada tabung reaksi yang tidak ditutup parafin, media berwarna kuning dan yang ditutup dengan parafin juga berwarna kuning. Perubahan warna kuning ini terjadi karena produksi asam. Ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut bersifat fermentatif. Seperti yang diungkapkan oleh Mac Faddin (1983), reaksi dikatakan bersifat fermentatif jika media yang ditutup parafin maupun tidak berwarna kuning. Reaksi dikatakan oksidatif jika pada media terbuka berwarna kuning sedangkan yang tertutup parafin berwarna hijau. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada lampiran 6.

d. Uji TSIA (*Tryptic Soy Iron Agar*)

Pada uji TSIA digunakan metode tusukan (*butt*) dan metode gores (*slan*). Hasil uji TSIA, pada metode tusukan terjadi perubahan warna media pada sekitar tusukan dan goresan menjadi coklat kekuningan. Ini menunjukkan bahwa semua bakteri uji bersifat asam baik pada hasil tusukan maupun goresan (tabel 6). Yang membedakan bakteri uji tersebut adalah produksi gas dan H₂S. Produksi H₂S ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi hitam pada goresan. Seperti yang dikatakan oleh Mac Faddin (1983), bahwa reaksi dikatakan positif jika terjadi perubahan warna pada media, produksi H₂S dilihat dari adanya warna hitam pada goresan. Uji H₂S positif yaitu jika terjadi warna hitam disepanjang goresan medium (Anonymous, 2004).

Tabel 6. Uji TSIA

Uji TSIA	LBS1 Ek	LBS1 Hp	LBS2 Ek	LBS2 Hp	Air 1	Air 2
Fermentasi	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
Produksi gas	ada	-	H ₂ S	gas	H ₂ S	H ₂ S

Keterangan: A/A = tusukan (asam) dan goresan (asam)

TSIA merupakan uji penentuan apakah organisme tersebut menghasilkan H₂S atau tidak. Sedangkan produksi gas dapat diketahui dari adanya gelembung gas pada tusukan. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada lampiran 5.

e. Uji LIA (*Lysin Iron Agar*)

Semua bakteri uji menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan adanya perubahan warna media pada tusukan maupun goresan, yaitu dari warna ungu menjadi kekuningan. Pada LBS1 Ek, LBS2 Ek, Air 1 dan Air 2, pada daerah goresan terlihat ada warna hitam baik pada tusukan maupun goresan seperti pada uji TSIA. Hasil uji LIA terdapat pada tabel 7.

Tabel 7. Uji LIA

Uji	LBS1 Ek	LBS1 Hp	LBS2 Ek	LBS2 Hp	Air 1	Air 2
-----	---------	---------	---------	---------	-------	-------

LIA	+	+	+	+	+	+
-----	---	---	---	---	---	---

Warna kuning disekitar tusukan disebabkan karena bakteri tersebut mampu merubah suatu asam amino l-Lysine menjadi cadaverine yang mempunyai 2 gugus amina (NH₂), yang ditandai dengan warna kuning. Jika terjadi perubahan warna media menjadi kuning berarti bahwa *lysin dekarboxylase* positif sedangkan jika warna tetap ungu baik pada goresan maupun tusukan berarti *lysine dekarboxylase* negatif (Anonymous, 2003b).

Untuk lebih jelas tentang perubahan warna media pada uji LIA dapat dilihat pada lampiran 5.

e. Uji MIO (*Motil Indol Ornithin*)

Uji MIO digunakan untuk mengetahui motil atau tidaknya bakteri, untuk penentuan indol bakteri dengan ditetesi kovaks ± 2 tetes dan untuk menentukan uji ornithin. Pada uji motilitas, semua bakteri uji menunjukkan hasil positif yang berarti bakteri tersebut bersifat motil. Hasil uji MIO terdapat pada tabel 8.

Tabel 8. Uji MIO

Uji MIO	LBS1 Ek	LBS1 Hp	LBS2Ek	LBS2Hp	Air 1	Air 2
motilitas	motil	motil	motil	motil	motil	motil
indole	+	+	+	+	+	+
ornithin	+	+	+	+	+	+

Uji motilitas positif bisa diketahui dari adanya pelebaran pada tusukan yang berarti pada tusukan terlihat adanya pertumbuhan bakteri. Mac Faddin (1983), mengatakan bahwa organisme motil yaitu yang mengalami perpindahan dari garis tusukan dan berdifusi pada medium disekitar tusukan yang disebabkan oleh turbiditas sehingga menyebabkan ketidakjelasan pertumbuhan pada daerah tusukan tidak nampak jelas.

Hasil uji indol, setelah ditetesi dengan reagen kovaks terjadi perubahan warna merah seperti cincin pada permukaan media. Ini menunjukkan semua hasil uji indol positif. Sedangkan indol negatif jika tidak terjadi perubahan warna. Mac Faddin (1983), mengatakan bahwa indol positif ditandai dengan adanya lapisan/cincin merah pada permukaan media. Akan tetapi jika tidak ada timbul cincin merah berarti indol negatif.

Pada uji ornithin, semua hasil uji menunjukkan ornithin positif yang ditandai dengan adanya perubahan warna media menjadi kuning pada tusukan. Warna kuning disekitar tusukan disebabkan karena bakteri tersebut mampu merubah suatu asam amino l-Ornithine menjadi putrescine yang mempunyai 2 gugus amina (NH_2) yang, ditandai dengan warna kuning. Uji ornithin dikatakan positif jika timbul warna kuning disekitar tusukan sebaliknya jika tidak ada berarti ornithin negatif (Anonymous, 2003b).

f. Uji gelatin

Pada uji gelatin, setelah diinkubasi selama 24 jam biakan dimasukkan ke dalam kulkas pada suhu 18°C selama ± 15 menit. Hasil uji menunjukkan bahwa semua bakteri bersifat gelatin positif. Hal ini ditandai dengan perubahan media menjadi padat. Mac Faddin (1983), uji gelatin positif yaitu jika diinkubasi pada suhu kurang dari 20°C , bila media mencair berarti gelatin negatif.

Dari uji gelatin dapat diketahui bahwa organisme uji mampu merubah suatu protein yang terdapat dalam media dengan enzim gelatinase menjadi senyawa asam. Mac Faddin (1983), mengatakan bahwa proses katabolisme protein oleh gelatinase terjadi melalui 2 tahap dan menghasilkan suatu campuran yaitu berupa asam amino. Gelatin akan padat pada suhu kurang dari 20°C , sedangkan akan cair pada suhu lebih dari 35°C . Nord *et al.* (1975) dalam Inglis *et al.* (2004), juga mengatakan bahwa golongan *Aeromonas hydrophila* memproduksi gelatinase,

kaseinase, elastase, lipase, lechitinase dan deoksiribonuklease yaitu pada haemolsin, cytotoxinin, dan enterotoksin. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada lampiran 5.

g. Uji gula

Berdasarkan hasil uji gula-gula seperti yang terdapat pada tabel 9, hasil uji gula dikatakan positif jika terdapat perubahan warna media dari merah menjadi kuning. Hal ini disebabkan karena organisme uji mampu menfermentasi kandungan gula media yang ditandai dengan warna kuning. Sedangkan dikatakan negatif jika tidak terjadi perubahan warna media. Semua hasil uji gula arabinosa, laktosa, dan manitol menunjukkan positif, sedangkan semua hasil uji negatif yaitu inositol. Pada uji gula laktosa masih terdapat variasi. Uji gula positif jika media berubah menjadi kuning yang berarti gula tersebut terfermentasi sedangkan uji gula negatif warna media kemerahan hingga merah muda (Anonymous, 2003b).

Tabel 9. Uji gula

Uji gula	LBS1 Ek	LBS1 Hp	LBS2 Ek	LBS2 HP	Air 1	Air 2
arabinosa	+	+	+	+	+	+
laktosa	+	-	-	+	-	-
manitol	+	+	+	+	+	+
sukrosa	+	+	+	+	+	+
glukosa	+	+	+	+	+	+
inositol	-	-	-	-	-	-

Berdasarkan hasil uji secara keseluruhan, dapat disimpulkan bahwa pada LBS1 Ek, LBS2 Ek, LBS2 Hp, Air1 dan Air 2 merupakan bakteri *Aeromonas hydrophila* sedangkan pada LBS1 Hp adalah bakteri *Aeromonas caviae*. Yang menjadi pembeda dapat dilihat pada uji TSIA yaitu adanya produksi H₂S atau tidak. Uji yang jelas terdapat produksi H₂S yaitu pada LBS2 Ek, Air 1 dan Air 2. Sedangkan pada LBS1 EK dan LBS2 Hp, pada uji TSIA meskipun hanya menghasilkan gas, namun pada uji biokimia yang lain lebih mendekati sifat uji

biokomia *Aeromonas hydrophila*. Pada LBS1 HP adalah *Aeromonas caviae* ditandai dengan tidak adanya produksi H₂S. Holt, *et al.* (1994) mengatakan bahwa *Aeromonas hydrophila* mampu menghasilkan H₂S sedangkan *Aeromonas caviae* tidak. Untuk lebih jelas tentang hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 5.

Untuk lebih jelas tentang perbedaan *Aeromonas*, dapat dilihat pada tabel 10 menurut Holt *et al.* (1994).

Tabel 10. Uji biokimia dalam Holt, *et al.* (1994):

Uji bikomia	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromonas caviae</i>
Produksi H ₂ S	+	-
Produksi indol	+	+
Lysin dekarboksilase	d	-
ornithin	-	-
motilitas	+	+
Hidrolisis gelatin	+	+
D – glukosa, asam	+	+
l-arabinosa, asam	+	+
Laktosa, asam	d	d
Manitol, asam	+	+

Keterangan:

+ : 90% atau lebih termasuk golongan positif

- : 90% atau lebih termasuk golongan negatif

d : 11-89% bisa termasuk golongan positif

Popoff (1984) dalam Inglis *et al.* (1994), juga mengatakan bahwa perbedaan *A. hydrophila* dengan *A. caviae* yaitu dari produksi gas yang berasal dari glukosa dan produksi H₂S dari sistein seperti yang terdapat pada tabel 11.

Tabel 11. Karakteristik *Aeromonas* menurut Popoff (1984) dalam Inglis *et al.* (1994)

Karakteristik	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. caviae</i>	<i>A. sobria</i>
Motilitas	+	+	+

Hidrolisis aeskulin	+	+	-
Tumbuh pada media KCN	+	+	-
Penggunaan L -histidine & L - arginin	+	+	-
Penggunaan L – arabinose	+	+	-
Fermentasi salicin	+	+	-
Produksi acetone (VP tes)	+	+	+
Produksi gas dari glukosa	+	-	+
Produksi H ₂ S dari sistein	+	-	+

4.2. Uji Invitro

Pada uji invitro dilakukan 3 tahapan uji yaitu uji pendahuluan, uji MIC dan uji MBC.

4.2.1 Uji pendahuluan

Uji pendahuluan menggunakan 11 dosis dengan 1 kali ulangan. Hasil uji ini dilanjutkan dengan uji MIC. Hasil diameter zona hambat pada uji pendahuluan, dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Diameter zona hambat uji pendahuluan

No	Dosis (ppm)	Diameter zona hambat (mm)
1.	0 (kontrol)	0
2.	10	14
3.	20	15
4.	30	13
5.	40	15
6.	50	15
7.	60	15
8.	70	16
9.	80	17

10.	90	15
11.	100 (kontrol)	18

Berdasarkan hasil uji pendahuluan, pada konsentrasi 0 ppm (kontrol), tidak terdapat zona hambat. Hal ini dikarenakan kertas cakram hanya terisi aquades steril. Pada dosis 10 ppm, zona hambat sebesar 14 mm. Sedangkan pada konsentrasi 30 ppm, menunjukkan penurunan zona hambat yaitu 13 mm. Akan tetapi pada dosis 40 ppm sudah menunjukkan kenaikan zona hambat hingga dosis 100 ppm sebagai kontrol.

Diameter zona pengambatan merupakan pengukuran MIC secara tidak langsung dari antibiotika terhadap mikroba. Sensitivitas klinik dari mikroba berdasarkan uji pendahuluan, kemudian ditentukan berdasarkan tabel 13 yaitu klasifikasi menurut Konemon *et al.* (1997) dalam Laminem (2007):

Tabel 13. Diameter zona hambat pada berbagai antibiotik menurut Konemon *et al.* (1997) dalam Laminem (2007)

No.	Antibiotik	Resisten (mm)	Intermediet (mm)	Efektif (mm)
1.	Penicillin (10 μ g)	< 28	-	\geq 29
2.	Oxytetra (30 μ g)	8	17	21
3.	Erytromycine (15 μ g)	\leq 13	14-17	\geq 18
4.	Streptomycine (10 μ g)	11	12-14	15
5.	Ciprofloxacin (5 μ g)	\leq 15	16-20	\geq 21
6.	Amoxycilin + Clavulanic acid (20g)	\leq 19	-	\geq 20
7.	Cefuroxim sodium (30 μ g)	14	15-22	23
8.	Gentamicin (10 μ g)	12	13-14	15
9.	Cefoperazone (75 μ g)	15	16-20	21
10.	Sulphamethoxalone + Trimethropim (25 μ g)	10	11-15	16

Dari hasil uji pendahuluan, maka dosis yang digunakan dalam uji MIC yaitu pada dosis 10 dan 20 ppm. Dosis 10 ppm tergolong dalam zona intermediet. Sedangkan zona sensitif pada dosis 20 ppm.

4.2.2. Uji MIC

Uji MIC merupakan suatu uji untuk menentukan kadar hambat minimum antimikroba. Dosis yang digunakan yaitu 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 30 ppm dengan 3 kali ulangan. Hasil uji MIC dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 14. Diameter zona hambat uji MIC

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A = 10 ppm	14	13	12	39	13
B = 15 ppm	14	13	15	42	14
C = 20 ppm	13	12	12	37	12.33
D = 25 ppm	16	14	13	43	14.33
E = 30 ppm	16	15	15	46	15.33
Total	-	-	-	207	-

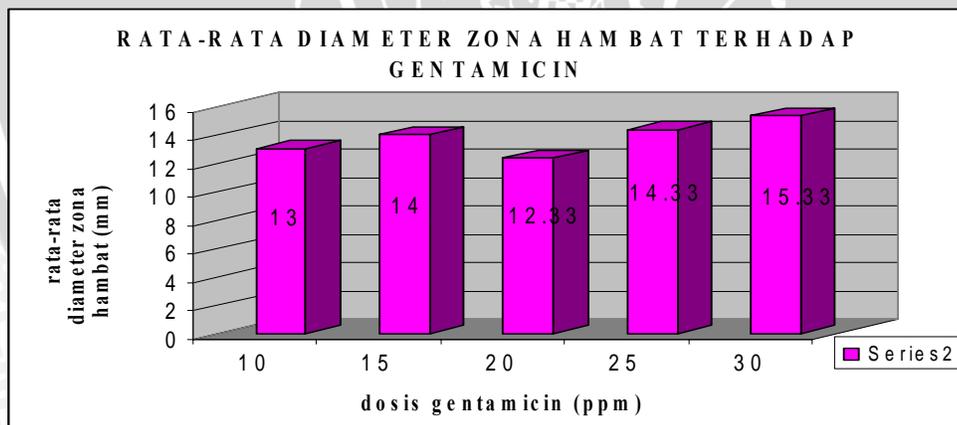
Tabel 14 menunjukkan bahwa pada dosis 10 ppm dan 15 ppm rata-rata diameter zona hambat yang naik yaitu dari 13 mm menjadi 14 mm. akan tetapi pada dosis 20 ppm, rata-rata diameter zona hambat sebesar 12,33 mm. hal ini bias terjadi karena adanya resistensi bakteri terhadap gentamisin. Pada dosis 25 ppm dan 30 ppm, rata-rata diameter zona hambat naik menjadi 14,33 mm dan 15,33 mm. dari rata-rata dosis gentamicin menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis maka diameter zona hambat juga semakin besar.

Mengacu pada Konemon *et al.* (1997) dalam Laminem (2007), dapat disimpulkan bahwa pada dosis 20 ppm, antibiotik bersifat resisten. Sedangkan pada dosis 10 ppm, 15 ppm dan 25 ppm bersifat intermediet. Sedangkan bersifat sensitif yaitu pada dosis 30 ppm.

Tabel 15. Diameter zona hambat gentamicin menurut Konemon *et al.* (1997) dalam Laminem (2007)

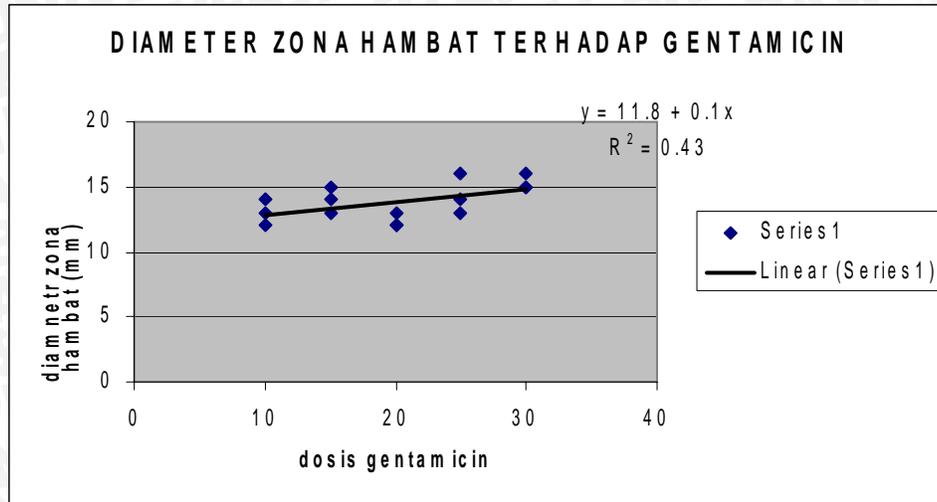
Antibiotik	Resisten	Intermediet	Sensitif
Gentamicin(10µg)	12	13-14	15

Menurut Bonang dan Koeswardono (1982) mengatakan bahwa gentamicin (10µg) bersifat sensitif dengan diameter 13 mm atau lebih. Dari sini dapat diketahui bahwa pada dosis 10 ppm sudah dapat digunakan. Hal ini mengingat penggunaan antibiotik seminimum mungkin untuk menghindari residu jika terakumulasi pada hewan komoditas. Untuk memperjelas hubungan dosis gentamicin dengan diameter hambatan bakteri maka digunakan diagram batang yang disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik batang rata-rata diameter zona hambat gentamicin terhadap *Aeromonas hydrophila*

Persamaan regresi yang didapatkan dari hubungan antara gentamicin terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah $Y = 11,8 + 0,1X$ dengan nilai $r = 0,65$. Grafik hubungan dosis gentamicin terhadap daerah hambatan perkembangan bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik hubungan antara gentamicin terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*

Gambar 5 menunjukkan bahwa semakin besar dosis gentamicin maka diameter yang terbentuk semakin besar. Hal ini disebabkan karena gentamicin dapat membunuh mikroba yaitu dengan cara menghambat sintesis protein bakteri. Brooks *et al.* (2004) mengatakan bahwa golongan aminoglikosida (kanamicin, neomisin, gentamicin, tobramisin, amikasin, dll.) mempunyai kemungkinan bertindak secara sama yaitu dengan menghambat sintesis protein bakteri.

Masih berdasarkan sumber yang sama, langkah pertama yaitu dengan dengan penambahan aminoglikan pada reseptor protein spesifik pada sub unit 30S ribosom mikrobia. Kedua, aminoglikosida memblokir aktifitas inisiasi kompleks normal pembentukan peptide (mRNA + formyl methionine + tRNA). Ketiga, pesan mRNA salah dibaca pada “daerah pengenalan” ribosom, yang dihasilkan dalam protein non fungsional. Keempat, penambahan aminoglikosida berakibat dalam pemecahan polisom dan pemisahannya ke dalam monosom yang tidak dapat mensintesis protein. Aktifitas terjadi lebih atau kurang simultan dan pengaruh atas semua itu biasanya tidak dapat kembali bahkan dapat membunuh bakteri.

4.2.3. Uji MBC

Uji MBC merupakan uji untuk menentukan kadar bunuh minimum. Dosis yang digunakan yaitu dosis uji MIC. Hasil uji MBC disajikan dalam tabel 16.

Tabel 16. Uji MBC

Perlakuan	Notasi
A = 10 ppm	++
B = 15 ppm	+
C = 20 ppm	+
D = 25 ppm	+
E = 30 ppm	-

Keterangan:

++ : tumbuh subur

+ : tumbuh

- : tidak tumbuh koloni

Berdasarkan hasil uji MIC, pada dosis 10 ppm, bakteri masih tumbuh subur yaitu lebih dari 300 koloni. Pada dosis 15 ppm jumlah bakteri 294 koloni. Bakteri mulai berkurang yaitu pada dosis 20 ppm sebanyak 93 koloni, sedangkan pada dosis 25 ppm, jumlah koloni bakteri sebanyak 16 koloni. Pada dosis 30 ppm, bakteri tidak tumbuh. Dari sini dapat disimpulkan pada dosis 10 ppm sampai 25 ppm, gentamicin masih bersifat bakteriostatik, sedangkan pada dosis 30 ppm, gentamicin sudah bersifat bakteriosidal. Rollins dan Joseph (2000), juga mengatakan bahwa MBC adalah pengujian dari uji MIC yang digunakan untuk menentukan konsentrasi antibiotik dimana ditandai dengan kematian bakteri pada uji invitro. Heritage (2006) juga mengatakan hal yang sama, bahwa jika suatu biakan mikroba dipindahkan dari pengenceran obat pada berbagai tingkat konsentrasi ke dalam media agar, lalu tidak tumbuh maka dikatakan bakteriosidal.

4.3. Lingkungan Hidup Bakteri

Bakteri memerlukan unsur kimiawi serta kondisi fisik tertentu untuk dapat tumbuh dengan baik. Sebagai parameter penunjang dalam penelitian ini dilakukan pengukuran terhadap pH dan suhu inkubator dimana kedua hal tersebut merupakan parameter yang terpenting dalam pertumbuhan bakteri.

Derajat keasaman (pH) merupakan ukuran aktivitas ion hidrogen (H^+). Pada umumnya bakteri dapat tumbuh pada pH media antara 5-9 dengan pH optimum adalah 7. Pada penelitian ini pengukuran pH dilakukan menggunakan pH paper pada saat media dalam kondisi cair dan padat. Hasil pengukuran pada uji invitro, didapatkan bahwa media TSA dan NB mempunyai pH 7. Buchanan dan Gibbons (1974), mengatakan bahwa beberapa spesies *Aeromonas* dapat tumbuh pada kisaran pH 5,5 - 9

Selain pH, suhu juga menentukan dalam pertumbuhan bakteri. Suhu yang terukur adalah suhu inkubator. Pada penelitian ini suhu inkubator yang digunakan adalah 37°C. Buchanan dan Gibbons (1974) mengatakan bahwa beberapa spesies *Aeromonas* dapat tumbuh pada suhu 37°C sedangkan suhu pertumbuhan maksimum yaitu 38-41°C. pertumbuhan minimum pada suhu 0-5°C. Sedangkan berdasarkan tes yang telah dilakukan, suhu optimum yaitu 30°C meskipun pada beberapa spesies pada uji yang telah dilakukan yaitu 20°C.

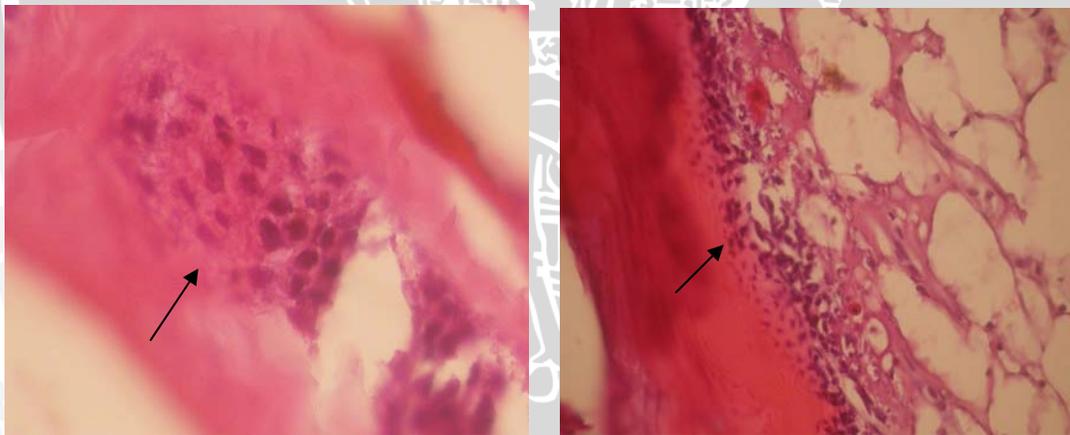
4.4. Histopatologi Lobster Air Tawar

Menurut Wijayanti (2004), histologi adalah ilmu yang berhubungan dengan struktur, komposisi dan fungsi dari jaringan. Patologi adalah segala sesuatu yang berhubungan dengan esensi penyakit, khususnya dalam hal perubahan struktur dan fungsi dalam jaringan dan organ tubuh yang menyebabkan atau disebabkan oleh penyakit. Oleh karena itu, histopathologi adalah ilmu yang mempelajari perubahan struktur dan fungsi di dalam jaringan dan organ

tubuh yang menyebabkan atau disebabkan oleh penyakit yang terlihat pada contoh yang diproses secara histologi.

Pengamatan histopatologi yang dilakukan pada penelitian ini yaitu pada bagian ekor dan hepatopankreas lobster yang terkena ekor melepuh. Pengamatan ini hanya terbatas pada perbedaan antara jaringan ekor dan hepatopankreas yang sehat dan yang sudah terinfeksi. Keadaan ini bisa menyebabkan nekrosis sel dimana menurut Thomas (1988), nekrosis adalah kematian jaringan lokal, secara morfologi dapat dikenali dengan adanya destruksi inti sel, homogenisasi sitoplasma, eosinofilia yang nyata meningkat.

Pada pengamatan histopatologi, organ yang diamati yaitu pada bagian ekor dan hepatopankreas. Sebagai perbandingan, masing-masing diambil pada organ sehat dan organ yang terinfeksi. Untuk lebih jelas tentang perbedaan jaringan ekor sehat maupun yang terinfeksi, dapat dilihat pada gambar 6.



Ekor lobster sehat

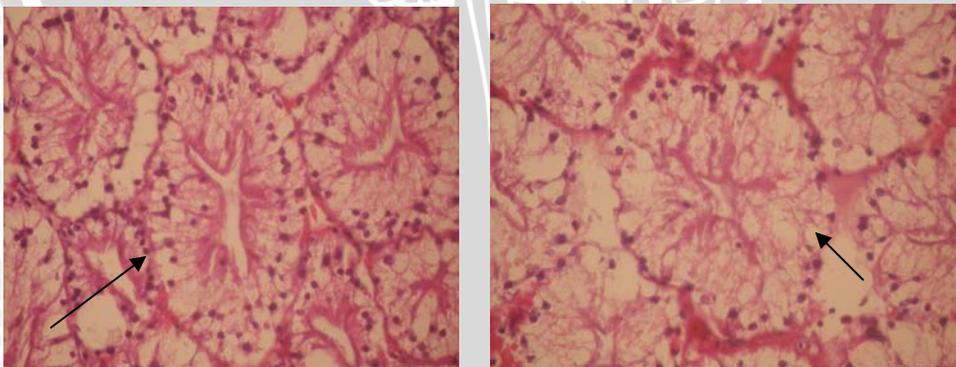
ekor lobster sakit

Gambar 6. Perbedaan histopathologi ekor lobster. Pewarna HE, 400X

Pada bagian jaringan ekor, tampak perbedaan antara jaringan ekor normal dengan ekor sakit. Pada jaringan ekor normal nampak sel-sel masih terlihat utuh dan beraturan dengan inti yang terlihat jelas. Sedangkan pada jaringan ekor sakit, sel mengalami nekrosis dan sel

nampak tidak beraturan dimana tidak terdapat bagian yang jelas antar sel satu dengan lainnya, sehingga letak inti tidak beraturan. Selain itu, nekrosis sel tersebut menyebabkan bagian organel sel tidak terlihat dengan jelas. Menurut Panigoro dkk. (2007), keadaan seperti ini disebut hiperplasia yaitu peningkatan volume organ yang diikuti peningkatan jumlah sel. Hiperplasia ini menyebabkan pembengkakan ekor.

Perbedaan jaringan hepathopankreas juga tampak pada lobster sehat dengan lobster yang sudah terinfeksi. Perbedaan tersebut adanya pembengkakan jaringan hepathopankreas.pada jaringan hepathopankreas yang normal, sel terlihat masih utuh, akan tetapi pada yang terinfeksi, sel-sel mengalami pembengkakan dengan inti yang berkurang dan berada di pinggir. Menurut Alifudin dkk. (2004), keadaan hipertrofi sel ini disebabkan perkembangan dan penumpukan virion yang berkembang dalam inti sel. Perkembangan selanjutnya menyebabkan inti sel bergerak ke pinggir, kemudian terjadi kariolisis (penghancuran inti sel) yang pada akhirnya sel akan lisis. Inti sel yang membengkak akan menekan cairan sel, tekanan yang besar terhadap dinding sel melebihi toleransi elastisitas dinding sel yang menyebabkan sel pecah dan lisis. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar 7.



Hepathopankreas lobster sehat

hepathopankreas lobster sakit

Gambar 7. Perbedaan histopathologi hepathopankreas lobster. Pewarna HE,400X.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Hasil penelitian tentang identifikasi dan uji invitro bakteri penyebab penyakit ekor melepuh pada lobster air tawar *Cherax quadricarinatus* dapat disimpulkan bahwa:

- ❖ Bakteri yang menyebabkan penyakit ekor melepuh adalah *Aeromonas hydrophila* dan *Aeromonas caviae*.
- ❖ Hasil uji invitro pada uji MIC dengan dosis 30 ppm merupakan rata-rata diameter terbesar yaitu 15,33 mm, sedangkan pada dosis 25 ppm dengan rata-rata diameter 14,33 mm, pada dosis 15 ppm sebesar 14 mm, dosis 10 ppm sebesar 13 ppm. Rata-rata diameter terendah yaitu pada dosis 20 ppm sebesar 12,33 mm Hubungan antara dosis gentamicin dengan rata-rata diameter zona hambat berupa regresi linier dengan persamaan $Y = 11.8 + 0.1 x$ dengan $R^2 = 0,43$ dan $r = 0,63$.
- ❖ Dosis gentamicin 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm masih bersifat bakteriostatik sedangkan pada dosis 30 ppm bersifat bakteriosidal.
- ❖ Hasil pengamatan jaringan ekor dan hepathopankreas menunjukkan adanya perbedaan jaringan lobster terinfeksi dengan yang sehat. Kerusakan jaringan tersebut menyebabkan nekrosis sel.

5.1 Saran

- ❖ Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji invivo menggunakan gentamicin untuk mengetahui dosis yang tepat.



DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous . 2003a . **Bakteriologi Medik** . Bayumedia Publishing . Malang. 373 hal.
- _____. 2003b . **Pemeriksaan Penyakit Ikan Golongan Bakteri** . Balai Karantina Ikan Kelas I Juanda . (Tidak Dipublikasikan).
- _____. 2004 . **Identifikasi Bakteri** . Makalah disampaikan pada Pelatihan PCR, Mikrobiologi Dan Histopatologi Bagi Petugas Dan Pengamat Hama Dan Penyakit Ikan di BBPBAP, 20 Juni - 3 Juli 2004 . 144 hal.
- Alifudin, M., D. Dana., M. Eidman., M. B. Malole dan F. H. Pasaribu . 2004 . **Patogenese Infeksi Virus White Spot (WS) Pada Udang Windu, *Penaeus monodon* Fab.** Prosiding Pengendalian Penyakit Ikan Dan Udang Berbasis Imunisasi Dan Biosecurity . Disampaikan dalam Seminar Nasional Penyakit Ikan Dan Udang IV di Purwokerto, 18-19 Mei 2004. 639 hal.
- Bonang, Gerard dan Enggar S. Koeswardono . 1982 . **Mikrobiologi Kedokteran** . Untuk Laboratorium Dan Klinik . Gramedia . Jakarta.199 hal.
- Brooks, G. S., Janet, S. Butel, dan Stephen, A. Morse. 2001 . **Jawetz, Melnick Dan Adelberg's Mikrobiologi Kedokteran** . Dialih bahasakan oleh bagian Mikrobiologi Kedokteran UNAIR . Salemba Medika . Jakarta . 528 hal.
- Buchanan, R. E. and N. E. Gibbons . 1974 . **Bergey's Manual Of Determinate Bacteriology** . Eight Edition . Wiliams and Wilkins Company . Baltimore London.
- Dwidjoseputro, D. 1987. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Penerbit Djambatan. Malang. 215 hal.
- Edberg, Stephen C. dan Stephen A. Berger . 1986 . **Antibiotika Dan Infeksi** . Dialih bahasakan oleh dr. Chandra Sanusi dan dr. Petrus Andrianto . Penerbit EGC Buku Kedokteran . Jakarta. 218 hal.
- Hadiutomo, Ratnasiri . 1985 . **Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek: Teknik Dan Prosedur Dalam Laboratorium** . Gramedia . Jakarta . 161 hal.
- Heritage, John . 2006 . **Antibiotics: Laboratory Studies On Antibiotic Action** . Leeds University . www.w3c.html
- Holt, John G., Noel R. Krieg., Peter H. Sneath., James T. Staley and Stanley T. Williams . 1994 . **Bergey's Manual Of Determinate Bacteriology** . Ninth Edition . Williams and Wilkins . Baltimore London.

Inglis Valerie., Ronald J. Roberts and Niall R. Bromage . 1994 . **Bacterial Disease Of Fish** . Blackwell Sciencetific Pub. United State. 328 hal.

Iskandar . 2006 . **Budidaya Lobster Air Tawar** . Agromedia Pustaka . Jakarta . 76 hal.

Kordi, K.M.G. 2004. **Penanggulangan Hama Dan Penyakit Ikan**. Bina Adiaksara. Jakarta. 194 hal.

Laminem, 2007 . **Kajian Efektifitas Ciprofloxacine Terhadap Infeksi *Aeromonas salmonicida* Pada Ikan Koi (*Ciprinus carpio*)** . Thesis . Universitas Brawijaya . Malang . 70 hal.

Mariyono dan Agus Sundana . 2002 . **Teknik Pencegahan Dan Pengobatan Penyakit Bercak Merah Pada Ikan air Tawar Yang Disebabkan Oleh Bakteri *Aeromonas hydrophila*** . Buletin Teknik Pertanian Vol. 1 No. 1, 2000. <http://www.blogsome.com>.

Mac Faddin, Jean F . 1983 . **Biochemical Test For Identification Of Medical Bacteria** . Second Edition . Williams and Wilkins . Baltimore London.

Panigoro, Novita., Indri Astuti., Meliya Bahnan., Prayudha D. C., Salfira dan Kunika Wakita . 2007 . **Teknik Dasar histopatologi Dan Atlas Dasar-dasar Histopatologi Ikan** . Balai Budidaya Air Tawar Jambi Dan Japan International Coperation Agency. 78 hal.

Pratama, M. R . 2005 . **Pengaruh Ekstrak Serbuk Kayu Siwak (*Salvadora persica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Difusi Agar** . <http://www.blogsome.com>.

Rollins, David and S.W. Joseph . 2000 . **Minimal Bakterial Concentration (MBC) : Pathogenic Microbiology** . University of Maryland . Colege Park . URL: <http://www.life.umd.edu/classroom/bsci424/index.html> .

Supriyadi, Hambali . 2006 . **Metode Strandard Pemeriksaan Bakteri Ikan** . Makalah disampaikan pada Apresiasi Standardisasi Teknis Karantina Ikan di Bogor, 7 – 9 Agustus 2006 . (Tidak Dipublikasikan).

Suryabrata, Sumadi . 1983 . **Metodologi Penelitian** . CV. Rajawali . Jakarta . 32-33 hal.

Taslihan, Arief . 2004 . **Petunjuk Teknis Pengendalian Hama Dan Penyakit Pada Budidaya Udang** . Makalah disampaikan pada Pelatihan PCR, Mikrobiologi Dan Histopatologi Bagi Petugas Dan Pengamat Hama Dan Penyakit Ikan di BBPBAP, 20 Juni - 3 Juli 2004 .

Thomas . C . 1988 . **Hitopatologi Buku Teks Dan Atlas Untuk Pelajaran Patologi Umum dan Khusus** . Dialih bahasakan oleh Tonang, liliawati dan Libertus . EGC Buku Kedokteran . Jakarta.

Trubus Online. 2006. **Karena Setitik Aeromonas Melepuh Seluruh Ekor.**
<http://www.trubus-online.com>.

Wikipedia. 2007a. **Antibiotik.** <http://www.wikipedia.co.id>.

_____, 2007b. **Gentamicin.** <http://www.wikipedia.co.id>.

Wijayanti, Anik . 2004 . **Aplikasi Histologi Untuk Diagnosa Penyakit Udang Dan Ikan.**
Makalah disampaikan pada Pelatihan PCR, Mikrobiologi Dan Histopatologi Bagi
Petugas Dan Pengamat Hama Dan Penyakit Ikan di BBPBAP, 20 Juni - 3 Juli 2004 .

Wiyanto, R. Hondo dan Rudi hartono . 2003 . **Lobster Air Tawar Pembenuhan dan
Pembesaran** . Penebar Swadaya . Jakarta . 79 hal.

Yim, Grace. 2007. **Attack Of Superbugs : Antibiotic Resistance.** The Science Creative
Quarterly, Issue Two Jan-Mar 2007. London



Lampiran 1. Bahan penelitian



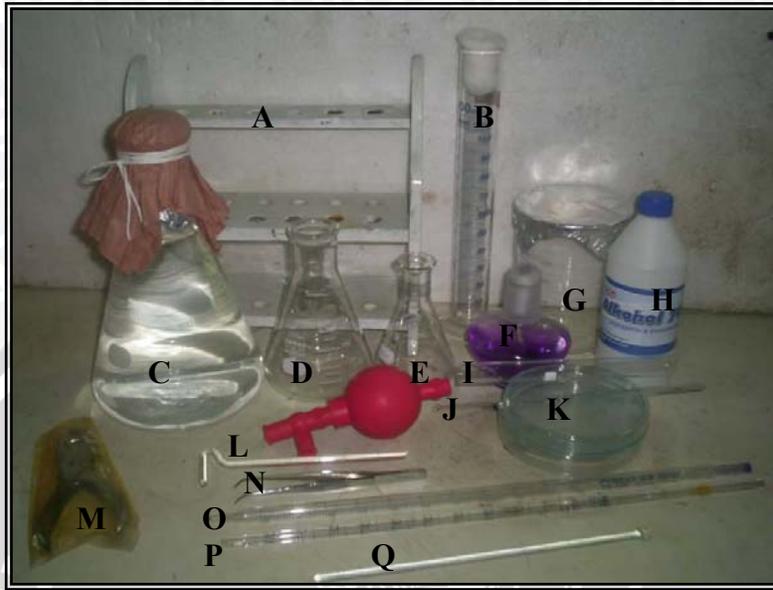
Gentamicin sulfat 0.3%



Keterangan:

- A : aluminium foil
- B : kertas perkamen
- C : TSA
- D : Nutrient broth
- E : Tisu
- F : Kapas
- G : Benang

Lampiran 2. Peralatan yang digunakan dalam penelitian



- Keterangan:
- A : rak tabung reaksi
 - B : gelas ukur 100 ml
 - C : beaker glass 1000 ml
 - D : Beaker glass 250 ml
 - E : beaker glass 100 ml
 - F : Bunsen
 - G : Beaker glass 500 ml
 - H : Alkohol 70 %
 - I : tabung reaksi
 - J : Jarum ose
 - K : Cawan Petri
 - L : Triangle
 - M : pemoting kertas cakram
 - N: Pinset
 - O: pipet volume 10 ml
 - P : pipet volume 1 ml
 - Q : Spatula

Lampiran 2. (lanjutan)



Sectio set



Laminary Air Flow



Timbangan digital



vortex dan hotplate



Autoklaf

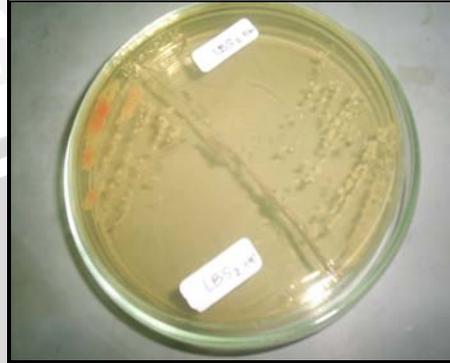


inkubator

Lampiran 3. Isolasi dan pemurnian



Isolasi lobster 1



isolasi lobster 2



Isolasi air



isolasi air



Pemurnian *A. hydrophila*



Pemurnian *A. caviae*

Lampiran 4. Uji gram dan uji biokimia

1. Pewarnaan Gram



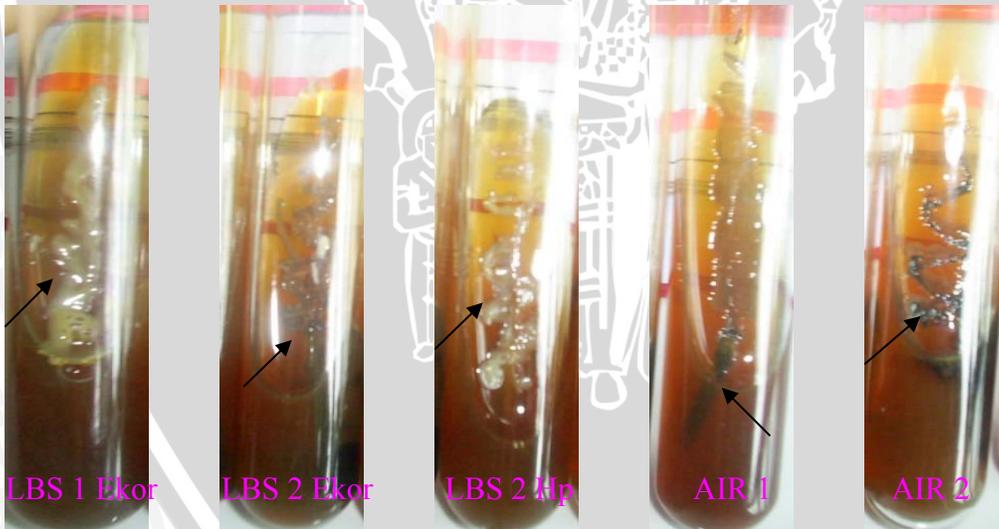
Keterangan:

Semua hasil uji menunjukkan warna merah muda yang berarti gram negatif.

2. Uji Biokimia

A. Uji TSIA (*Tryptic Soy Iron Agar*)

a. *Aeromonas hydrophila*



Keterangan:

- Terdapat perubahan warna di sekitar tusukan maupun goresan dari coklat tua menjadi kekuningan.
- Tanda panah pada LBS 1 Ekor dan LBS 2 Hepatopankreas, merupakan hasil glikolisis glukosa yang terkandung dalam media menjadi gas.
- Tanda panah pada LBS 2 Ekor, Air 1 dan Air 2, merupakan hasil perombakan sistein yang terkandung dalam media menjadi H_2S , ditandai dengan warna hitam baik pada tusukan maupun pada goresan.

Lampiran 4. (lanjutan)

b. *Aeromonas caviae* (Lobster 1 hepatopankreas)



Keterangan:

Tanda panah menunjukkan bahwa tidak ada produksi gas maupun H₂S

B. Uji LIA (*Lysin Iron Agar*)

a. *Aeromonas hydrophila*



LBS 1 ekor



LBS 2 Ekor



LBS 2 Hp



AIR 1



AIR 2

Keterangan:

- Semua hasil uji merupakan LIA positif yang ditandai dengan perubahan warna di sekitar tusukan maupun goresan dari ungu menjadi kekuningan.
- Tanda panah yang ditunjukkan pada LBS 1 Ekor, LBS 2 Ekor, Air 1 dan Air 2 terdapat warna hitam pada tusukan maupun pada goresan yang merupakan hasil katabolisme pepton yang terkandung dalam media menjadi H₂S.

- Tanda panah pada LBS 2 Hp merupakan hasil produksi glikolisis berupa gas pada tusukan maupun goresan.

Lampiran 4. (Lanjutan)

b. *Aeromonas caviae* (Lobster 1 hepatopankreas)



Keterangan:

- Hasil LIA positif ditandai dengan adanya perubahan warna di sekitar tusukan maupun goresan dari ungu menjadi kekuningan.
- Tanda panah merupakan hasil produksi glikolisis berupa gas.

C. Uji Oksidase



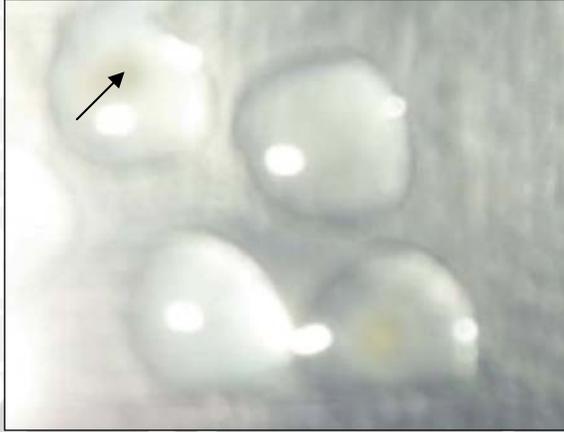
Keterangan:

- Semua hasil uji adalah oksidase positif
- Tanda panah merupakan perubahan reagen pada kertas menjadi biru.



Lampiran 4. (lanjutan)

D. Uji katalase



Keterangan:

Tanda panah adalah gelembung gas hasil perombakan H_2O_2 menjadi O_2 .

E. Uji Oksidatif / fermentatif

1. Aerob (tidak ditutup parafin)



Keterangan:

- A: *Aeromonas hydrophila*
- B: *Aeromonas caviae*
- Semua hasil uji menunjukkan pada kondisi aerob mampu menfermentasi glukosa ditandai dengan perubahan media menjadi kuning.

Lampiran 4. (lanjutan)

2. An aerob (ditutup parafin).



Keterangan

- A: *Aeromonas hydrophila*
- B: *Aeromonas caviae*
- Semua hasil uji menunjukkan pada kondisi an aerob mampu menfermentasi glukosa ditandai dengan perubahan media dari ungu menjadi kekuningan

F. Uji Gula

a. Glukosa



Keterangan:

- A: *Aeromonas hydrophila*
- B: *Aeromonas caviae*

- Semua hasil uji menunjukkan positif , ditandai perubahan warna media menjadi kuning.

Lampiran 4. (lanjutan)

b. Sukrosa



Keterangan:

- A: *Aeromonas hydrophila*
- B: *Aeromonas caviae*
- Semua hasil uji menunjukkan positif , ditandai perubahan warna media menjadi kuning.

c. laktosa



Keterangan:

- A: *Aeromonas hydrophila*
- B: *Aeromonas caviae*
- Tanda panah merupakan laktosa positif yaitu pada Lobster 1 ekor dan lobster 2 hepatopankreas, ditandai dengan perubahan media menjadi kekuningan.

- Hasil uji lain adalah negatif, tidak dapat menfermentasi laktosa (hasil uji bersifat fariabel)

Lampiran 4. (lanjutan)

d. manitol



Keterangan:

- A: *Aeromonas hydrophila*
- B: *Aeromonas caviae*
- Semua hasil uji menunjukkan positif , ditandai perubahan warna media menjadi kuning.

e. Arabinosa



Keterangan:

- A: *Aeromonas hydrophila*
- B: *Aeromonas caviae*
- Tanda panah merupakan hasil uji negatif yang ditandai dengan tidak adanya perubahan warna media (tetap merah).



Lampiran 4. (lanjutan)

f. inositol



Keterangan:

- A: *Aeromonas hydrophila*
- B: *Aeromonas caviae*
- Semua hasil uji menunjukkan negatif , ditandai dengan tidak adanya perubahan warna media (tetap merah).

Lampiran 5. Hasil identifikasi bakteri penyebab ekor melepuh pada lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*).

UJI	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromonas caviae</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromonas Hydrophila</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>
	LBS 1 Ekor	LBS 1 Hp	LBS 2 Ekor	LBS 2 Hp	Air 1	Air 2
Koloni						
• Warna	krem	krem	krem	krem	krem	krem
• Bentuk elevasi	cembung	cembung	cembung	cembung	cembung	cembung
• Tepi	rata	rata	rata	rata	rata	rata
• Struktur dalam	transparan	transparan	transparan	transparan	transparan	transparan
Uji Gram						
Bentuk	batang	batang	batang	batang	batang	batang
Uji Biokimia						
• Oksidase	+	+	+	+	+	+
• Katalase	+	+	+	+	+	+
• OF	F	F	F	F	F	F
• Novobiosin 30mg	-	-	-	-	+	-
• TSIA	A/A (Gas)	A/A	A/A (H ₂ S)	A/A (Gas)	A/A (H ₂ S)	A/A (H ₂ S)
• LIA	+	+	+	+	+	+
• Motilitas	motil	motil	motil	motil	motil	motil
• Gelatin	+	+	+	+	+	+
• Indole	+	+	+	+	+	+
• Ornithin	+	+	+	+	+	+
• TCBS						
Uji Gula						
• Arabinosa	-	+	+	+	+	+
• Laktosa	+	-	-	+	-	-
• Manitol	+	+	+	+	+	+
• Sukrosa	+	+	+	+	+	+
• Glukosa	+	+	+	+	+	+
• Inositol	-	-	-	-	-	-

Lampiran 6. Dosis gentamicin



100 ppm

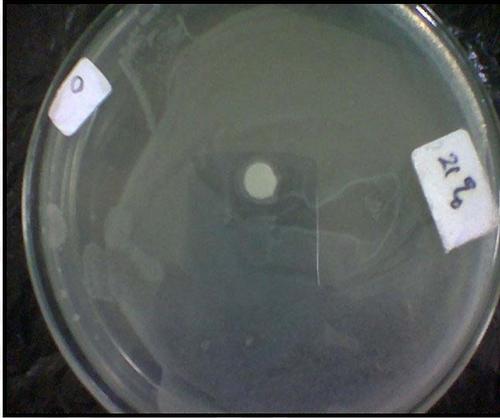


Keterangan :

- A: 0 ppm
- B : 10 ppm
- C : 15 ppm
- D : 20 ppm
- E : 25 ppm
- F : 30 ppm
- G : 100 ppm



Lampiran 7. Uji pendahuluan



0 ppm



10 ppm



20 ppm



30 ppm



40 ppm

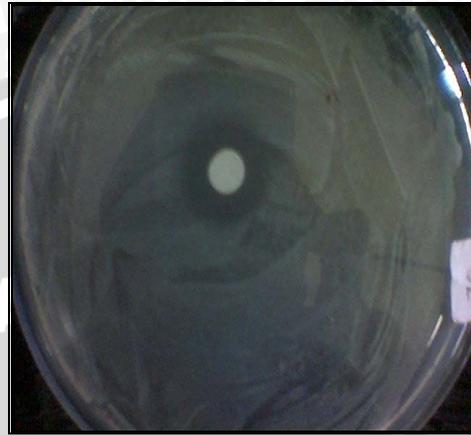


50 ppm

Lampiran 7. (Lanjutan)



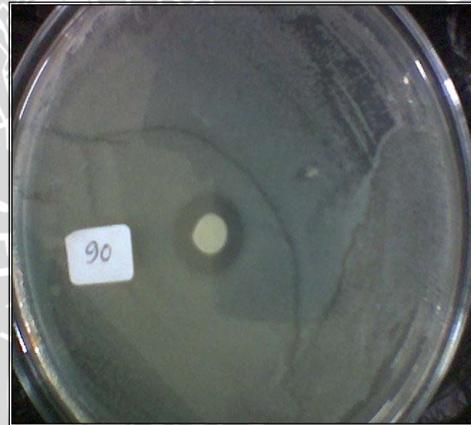
60 ppm



70 ppm



80 ppm



90 ppm

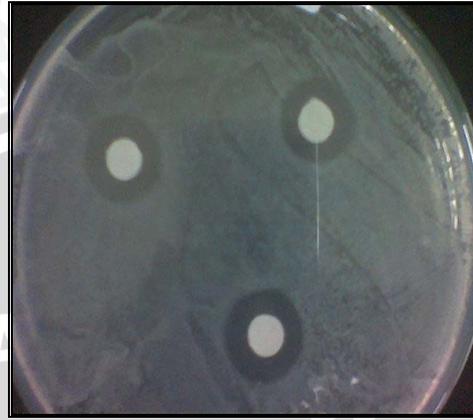


100 ppm

Lampiran 8. Uji MIC



10 ppm



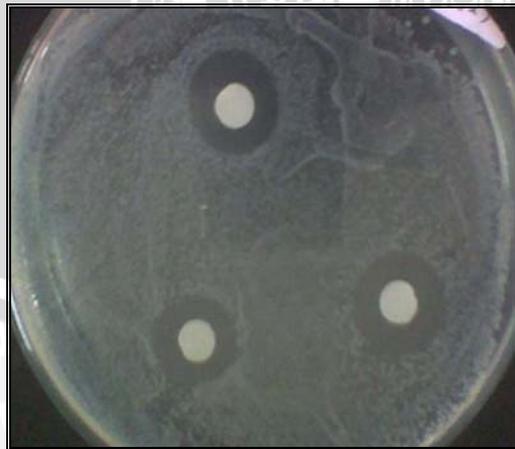
15 ppm



20 ppm



25 ppm



30 ppm

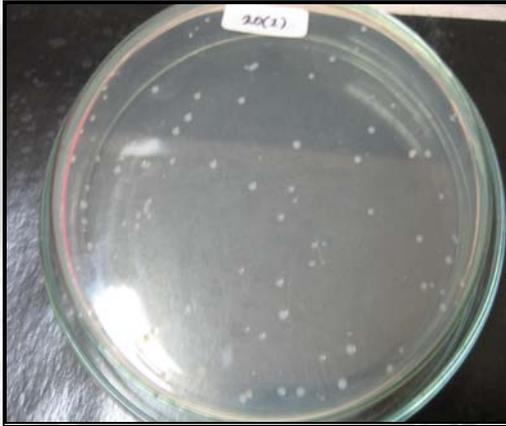
Lampiran 9. Uji MBC



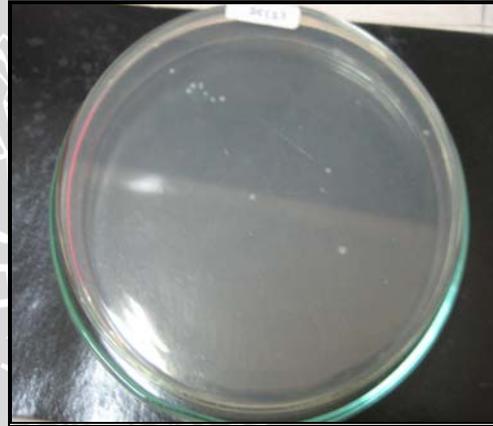
10 ppm



15 ppm



20 ppm



25 ppm



30 ppm

