

**UJI HOMOGENITAS DAN UJI STABILITAS PATOGEN IKAN
Aeromonas hydrophila (Stanier, 1943) DALAM MEDIA *TRANSPORT*
*AMIES***

(Skripsi)

Oleh

**Sri Ajeng Kholifatun Nisa
1914111051**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

UJI HOMOGENITAS DAN UJI STABILITAS PATOGEN IKAN *Aeromonas hydrophila* (Stanier, 1943) DALAM MEDIA *TRANSPORT* *AMIES*

Oleh

Sri Ajeng Kholifatun Nisa

Kegiatan budi daya ikan air tawar terancam oleh infeksi penyakit yang disebabkan oleh *Aeromonas hydrophila*. Isolat bakteri ini sering digunakan sebagai bahan praktikum, penelitian, kontrol kualitas di laboratorium, dan plasma nutfah. Penelitian mengenai pengaruh durasi transportasi isolat bakteri, penentuan suhu dan waktu inkubasi isolat *Aeromonas hydrophila* dengan media *transport amies* untuk menguji stabilitas dan homogenitasnya masih sangat terbatas. Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi homogenitas dan stabilitas isolat *Aeromonas hydrophila* yang dipreservasi di media *transport amies* setelah ditransportasikan dengan perbedaan durasi transportasi, suhu, dan waktu inkubasi. Isolat yang digunakan adalah ATCC *Aeromonas hydrophila* 7966 dan isolat lokal I/685. Penelitian dilakukan di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang. Parameter pada penelitian ini adalah uji homogenitas dan uji stabilitas dengan memperhatikan viabilitas serta deteksi *Aeromonas hydrophila*. Hasil yang didapatkan adalah 56 bahan uji dari dua isolat utama 100% homogen, 100% stabil setelah ditransportasikan ke BBPBAT Sukabumi Jawa Barat, BPBAT Mandiangin Kalimantan Selatan, BPBAP Aceh, serta disimpan pada suhu 4°C, 25°C, dan 37°C selama empat minggu.

Kata kunci: *Aeromonas hydrophila*, media *transport amies*, homogenitas, stabilitas

ABSTRACT

THE HOMOGENEITY TEST AND STABILITY TEST FOR FISH PATHOGEN OF *Aeromonas hydrophila* (Stanier, 1943) IN AMIES TRANSPORT MEDIUM

By

Sri Ajeng Kholifatun Nisa

Fish farming activities in fresh water was threat by diseases caused by *Aeromonas hydrophila*. This bacterial isolate is often used as material for practical work, research, quality control in laboratory, and germplasm. Research on the duration of transportation of bacterial isolates, optimal temperature and incubation period for *Aeromonas hydrophila* isolates with amies transport medium to test its stability and homogeneity are still limited. This research was conducted to evaluated homogeneity and stability of *Aeromonas hydrophila* isolates preserved in the amies transport medium after transportation with differences in transportation duration, temperature, and incubation time. The isolates used were ATCC *Aeromonas hydrophila* 7966 and local isolate I/685. The research was conducted at Fish and Environmental Health Testing Center (BPKIL) Serang. The parameters in this study were homogeneity and stability tests taking into account the viability and detection of *Aeromonas hydrophila*. The results obtained were that 56 test materials from the two main isolates were 100% homogeneous, 100% stable after transported to BBPBAT Sukabumi West Java, BPBAT Mandiangin South Kalimantan, BPBAP Aceh, and stored at 4°C, 25°C and 37°C for four weeks.

Keyword: *Aeromonas hydrophila*, amies transport medium, homogeneity, stability

**UJI HOMOGENITAS DAN UJI STABILITAS PATOGEN IKAN
Aeromonas hydrophila (Stanier, 1943) DALAM MEDIA *TRANSPORT*
*AMIES***

Oleh

SRI AJENG KHOLIFATUN NISA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERIKANAN**

Pada

**Jurusan Perikanan dan Kelautan
Fakultas Pertanian**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

Judul : **UJI HOMOGENITAS DAN UJI STABILITAS
PATOGEN IKAN *Aeromonas hydrophila*
(Stanier, 1943) DALAM MEDIA *TRANSPORT*
*AMIES***

Nama Mahasiswa : **Sri Ajeng Kholifatun Nisa**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1914111051

Program Studi : Budidaya Perairan

Jurusan : Perikanan dan Kelautan

Fakultas : Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

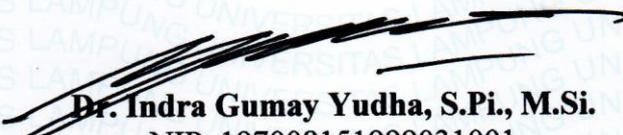
Pembimbing I

Pembimbing II


Dr. Yudha Trinoegraha A, S.Pi., M.Si.
NIP. 197807082001121001


Yan Evan, S.Pi., M.Si.
NIP. 198705252010121002

2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan


Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si.
NIP. 197008151999031001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: **Dr. Yudha Trinoegraha A, S.Pi., M.Si.**



Sekretaris

: **Yan Evan, S.Pi., M.Si.**

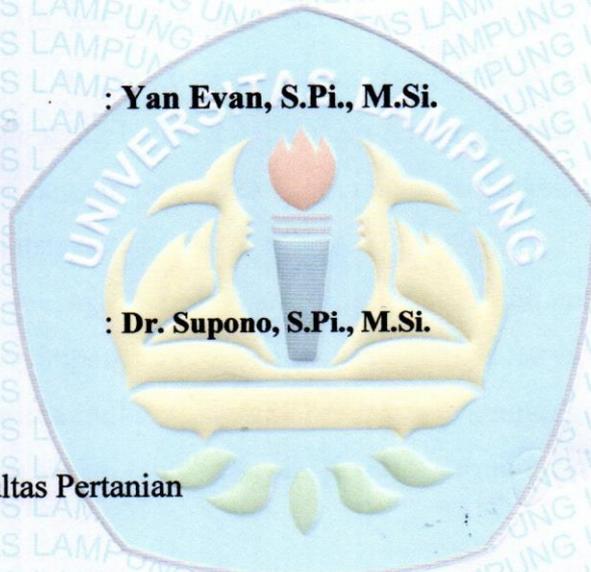


Anggota

: **Dr. Supono, S.Pi., M.Si.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.

NIP. 196411181989021002

Tanggal lulus ujian skripsi: **03 April 2024**

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi ini adalah asli belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (sarjana) di Universitas Lampung.
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan dari tim pembimbing.
3. Dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai referensi dengan disebutkan nama penulisnya kemudian dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran atas karya tulis ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh ataupun sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Bandar Lampung, 05 Mei 2024

Yang membuat pernyataan



Sri Ajeng Kholifatun Nisa
NPM. 1914111051

RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di Kabupaten Sukabumi, Jawa Barat pada 26 April 2001, yang merupakan anak pertama dari dua bersaudara pasangan Bapak Singgih Basuki dan Ibu Susi Lawati. Penulis mengawali pendidikan di Sekolah Dasar Negeri (SDN) Cikadal pada 2006-2012, melanjutkan ke Madrasah Tsanawiyah (MTS) Al-Furqon pada 2012-2015, dan melanjutkan ke Sekolah Menengah Atas Negeri (SMAN) 1 Jampangkulon pada 2015-2018. Penulis menempuh pendidikan di Sekolah Vokasi Institut Pertanian Bogor melalui jalur Undangan Seleksi Masuk IPB (USMI) pada 2018-2021, dan melanjutkan pendidikan ke jenjang sarjana (S1) pada 2022 di Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif mengikuti kegiatan magang mandiri di Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara komoditas udang vaname segmentasi pembenihan. Penulis mengikuti kegiatan Merdeka Belajar Kampus Merdeka (MBKM) pertukaran pelajar di Universitas Brawijaya pada Agustus-Desember 2022. Penulis mengikuti kegiatan Merdeka Belajar Kampus Merdeka (MBKM) Riset di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang di Laboratorium Mikrobiologi pada Februari-Desember 2023.

PERSEMBAHAN

Dengan penuh rasa cinta dan syukur yang tidak terhingga kepada Allah SWT yang telah memberikan kekuatan, kemudahan, kenikmatan, perlindungan, kelancaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Selawat dan salam selalu tercurah kepada Nabi Muhammad SAW. Dengan penuh rasa cinta, kasih sayang, dan kerendahan hati, saya persembahkan skripsi ini kepada Ayahanda Singgih Basuki, Ibunda Susi Lawati, dan keluarga terdekat yang selalu mendoakan, menasihati, memberikan dukungan, dan semangat. Semoga Allah SWT selalu memberikan kesempatan kepada saya untuk terus berbakti kepada orang tua dan keluarga serta menjadi manusia yang bermanfaat. Saya persembahkan karya ini kepada BPKIL Serang terutama penyelia dan analis di Laboratorium Mikrobiologi yang selalu memberikan nasihat, pengalaman, dan ilmu yang sangat bermanfaat. Saya persembahkan juga karya ini kepada teman-teman yang telah membantu dan mendoakan.

Serta almamater tercinta, Universitas Lampung.

MOTO

Rida Allah tergantung rida orang tua dan murka Allah tergantung pada murka orang tua (HR. Tirmidzi).

Tenang ada Allah, Allah yang maha tahu, Allah yang maha mampu dan maha memampukan, jadi lakukan apapun jalan yang Allah tunjukan.

Jika Allah menolong kamu, maka tidak ada yang dapat mengalahkanmu (QS. Ali' Imran: 160).

Sebaik-baik manusia adalah yang paling banyak manfaatnya bagi manusia (HR. Ahmad).

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang memberikan kemudahan serta kelancaran sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul “Uji Homogenitas dan Uji Stabilitas Patogen Ikan *Aeromonas hydrophila* (Stanier, 1943) dalam Media *Transport Amies*”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat yang harus dipenuhi oleh penulis dalam menyelesaikan pendidikan dan meraih gelar sarjana perikanan di Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Penyusunan skripsi dapat berjalan lancar dan diselesaikan dengan baik tidak lepas dari izin Allah SWT serta bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung;
2. drh. Toha Tusihadi, selaku Kepala Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang yang telah memberikan kesempatan untuk melaksanakan penelitian di BPKIL Serang;
3. Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si., selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan;
4. Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D., selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan, sekaligus pembimbing akademik yang telah mendukung, memberikan saran, kritik, serta nasihat selama menempuh pendidikan di Universitas Lampung;
5. Dr. Yudha Trinoegraha Adiputra, S.Pi., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Pertama yang telah memberikan kritik dan saran yang bermanfaat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi;

6. Yan Evan, S.Pi., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Kedua atas kritik dan saran yang bermanfaat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi;
7. Dr. Supono, S.Pi., M.Si., selaku Dosen Penguji atas kritik serta saran yang bermanfaat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi;
8. Dosen-dosen dan staf administrasi Jurusan Perikanan dan Kelautan, Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu, motivasi, dan bantuan dalam penyelesaian studi dan skripsi;
9. Suherman, S.Si., M.Si., drh. Rismelsy, Yasintha Inggariyanti, A.Md., Dinar-ti, S.Si., Indriasih, S.Si., M.Si., Wiwin Wiyani, A.Pi., Tatang Sudiman, Mentari Yuliana Jaya, dan seluruh karyawan BPKIL Serang yang telah memberikan banyak bantuan selama penulis melaksanakan penelitian;
10. Ibu, Ayah, Adek, serta keluarga besar yang senantiasa mendoakan, memberikan semangat, dan memberikan bantuannya selama ini;
11. Teman-teman MBKM di BPKIL Serang dan teman-teman Program Studi Budi-daya Perairan yang telah memberikan dukungan dan bantuan.

Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat, dapat dijadikan sebagai salah satu sumber untuk menambah ilmu pengetahuan, dan dijadikan sebagai sumber informasi mengenai homogenitas dan stabilitas isolat bakteri yang dipreservasi di media *transport amies* khususnya untuk penulis dan umumnya untuk pembaca.

Bandar Lampung, 05 Mei 2024

Sri Ajeng Kholifatun Nisa

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.5 Kerangka Pikir	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>Aeromonas hydrophila</i>	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	5
2.1.2 Karakteristik dan Pertumbuhan	6
2.1.3 Habitat dan Penyebaran	7
2.2 Uji Homogenitas	8
2.3 Uji Stabilitas.....	8
2.4 Media <i>Transport Amies</i>	9
III. METODE PENELITIAN	10
3.1 Waktu dan Tempat.....	10
3.2 Alat dan Bahan.....	10
3.3 Metode Penelitian	12
3.4 Prosedur Penelitian	13
3.4.1 Sterilisasi Alat	13
3.4.2 Pembuatan Media	13
3.4.3 Pengambilan Sampel Isolat Bakteri.....	13

3.4.4	Isolasi Bakteri	14
3.4.5	Identifikasi menggunakan Vitek 2 Compact	14
3.4.6	Deteksi dengan Metode <i>Polymerase Chain Reaction</i>	15
3.4.6.1	Ekstraksi DNA.....	15
3.4.6.2	Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA.....	15
3.4.6.3	Amplifikasi	15
3.4.6.4	Elektroforesis dan Pembacaan.....	16
3.4.7	Preservasi <i>Aeromonas hydrophila</i>	17
3.5	Parameter Penelitian	17
3.5.1	Uji Homogenitas.....	17
3.5.2	Uji Stabilitas	17
3.6	Analisis Data.....	18
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	19
4.1	Hasil	19
4.1.1	Identifikasi <i>Aeromonas hydrophila</i>	19
4.1.2	Uji Homogenitas.....	20
4.1.3	Uji Stabilitas	21
4.2	Pembahasan.....	23
V.	SIMPULAN DAN SARAN	27
5.1	Simpulan	27
5.2	Saran	27
	DAFTAR PUSTAKA	29
	LAMPIRAN	33

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat-alat yang digunakan selama penelitian.....	10
2. Bahan-bahan yang digunakan selama penelitian.....	11
3. Komposisi bahan <i>master mix</i>	16
4. Siklus amplifikasi <i>Aeromonas hydrophila</i>	16
5. Hasil uji homogenitas.	21
6. Hasil uji stabilitas berdasarkan durasi transportasi.	22
7. Hasil uji stabilitas berdasarkan suhu dan waktu inkubasi.	23

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir penelitian	4
2. Bentuk dan warna sel <i>Aeromonas hydrophila</i>	6
3. Karakteristik <i>Aeromonas hydrophila</i>	20
4. Hasil PCR <i>Aeromonas hydrophila</i> gen hlyA 130 bp	20

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil uji stabilitas berdasarkan durasi transportasi	34
2. Hasil uji stabilitas berdasarkan suhu dan waktu inkubasi	34
3. Konsentrasi dan kemurnian DNA sampel uji homogenitas	36
4. Kualitas DNA uji stabilitas berdasarkan durasi transportasi.....	36
5. Kualitas DNA uji stabilitas berdasarkan suhu dan waktu inkubasi.....	37
6. Kondisi bahan uji setelah ditransportasikan	37

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perikanan budi daya merupakan salah satu sektor yang berpotensi besar menjadi penggerak utama pertumbuhan ekonomi di Indonesia menggantikan sektor perikanan tangkap yang jumlah produksinya mengalami penurunan (Triswiyana *et al.*, 2022). Salah satu jenis kegiatan budi daya di Indonesia adalah budi daya ikan konsumsi air tawar segmentasi pembenihan dan pembesaran. Data statistik KKP menunjukkan bahwa pada 2021, volume produksi ikan air tawar adalah 3.474.382 ton, pada 2022 mengalami peningkatan dengan volume 3.467.019 ton, dan pada 2023 adalah 3.662.622 ton. Berdasarkan data tersebut diketahui bahwa volume produksi ikan air tawar setiap tahun selalu mengalami peningkatan. Di samping itu, keberhasilan budi daya ikan air tawar tidak terlepas dari kegiatan manajemen pemeliharaan kondisi lingkungan dan infeksi penyakit (Putri & Fauziah, 2021).

Penyakit merupakan kendala yang sering menjadi faktor utama penghambat keberhasilan produksi. *Motile aeromonas septicemia* (MAS) menurut Karina *et al.* (2015) merupakan penyakit yang menginfeksi ikan air tawar yang disebabkan oleh *A. hydrophila*. Isolat yang diisolasi dari ikan dan positif teridentifikasi *A. hydrophila* dimanfaatkan sebagai bahan praktikum dan penelitian (Seniati *et al.*, 2020). Tingginya intensitas kebutuhan terhadap *A. hydrophila* berkaitan dengan kegiatan preservasi untuk menjamin ketersediaannya. Isolat bakteri yang dipreservasi menurut Susilawati & Purnomo (2016) diperlukan untuk penelitian, memenuhi kebutuhan di laboratorium sebagai bahan untuk kontrol kualitas, dan plasma nutfah mikroba untuk menjamin ketersediaannya apabila suatu saat diperlukan. Sifat dan karakteristik dari *A. hydrophila* rentan mengalami perubahan

sehingga dapat memicu terbentuknya *strain* baru yang berbeda dengan aslinya (Machmud, 2001). Oleh karena itu, ketepatan preservasi dan ketersediaan isolat yang homogen serta stabil perlu diperhatikan. Hal ini sebagai salah satu upaya untuk menjaga agar isolat bakteri dapat tetap hidup, ciri-ciri genetiknya tetap stabil, homogenitasnya terjaga, hemat biaya, dan hemat tenaga (Seniati *et al.*, 2020).

Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam kegiatan koleksi dan preservasi adalah ketepatan suhu, waktu, dan media penyimpanan (Rachmat & Shovitri, 2021). Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Yuasa *et al.* (2003) menjelaskan bahwa subkultur yang dilakukan secara berkala dapat meningkatkan kemungkinan adanya kontaminan dan menurunkan patogenitas dari bakteri yang dikultur. Metode penyimpanan dengan pembekuan merupakan solusi yang dapat digunakan untuk menghindari penurunan kualitas. Setiaji *et al.* (2015) menyatakan bahwa data pertumbuhan *A. hydrophila* pada setiap perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda. Adanya perbedaan ini dipengaruhi oleh tekanan osmosis antara bakteri dengan krioprotektan, nutrisi, penurunan suhu, dan proses pencairan. Suhu yang melebihi batas optimum menyebabkan terbentuknya lubang pada membran sel sehingga memicu munculnya senyawa superoksida yang bersifat toksin bagi bakteri itu sendiri.

A. hydrophila merupakan patogen yang keberadaannya sangat diperhatikan dalam kegiatan budi daya ikan karena dapat menyebabkan kerugian. Ketersediaan isolat stabil dan homogen diperlukan untuk menunjang tindakan diagnosa di lapangan maupun di laboratorium agar tidak adanya kekeliruan (Setiaji *et al.*, 2015). Pemenuhan kebutuhan terhadap isolat *A. hydrophila* untuk tindakan diagnosa sering kali didatangkan dari tempat lain sehingga faktor-faktor seperti suhu, lama waktu penyimpanan, dan pengaruh transportasi perlu diperhatikan. Penelitian mengenai pengaruh transportasi pada saat pengiriman isolat bakteri dari satu tempat ke tempat lain, penentuan suhu dan waktu penyimpanan isolat *A. hydrophila* yang optimal untuk memastikan stabilitas dan homogenitas dari isolat tersebut masih sangat terbatas, penyimpanan pada media yang lebih praktis serta efisien seperti media *transport amies* juga belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk memecahkan masalah tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana kondisi homogenitas dan stabilitas isolat *Aeromonas hydrophila* setelah ditransportasikan, diinkubasi pada suhu serta waktu tertentu dalam media *transport amies*?

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah mengevaluasi homogenitas serta stabilitas isolat *Aeromonas hydrophila* yang dipreservasi di media *transport amies* setelah ditransportasikan dengan perbedaan durasi transportasi, suhu, serta waktu inkubasi.

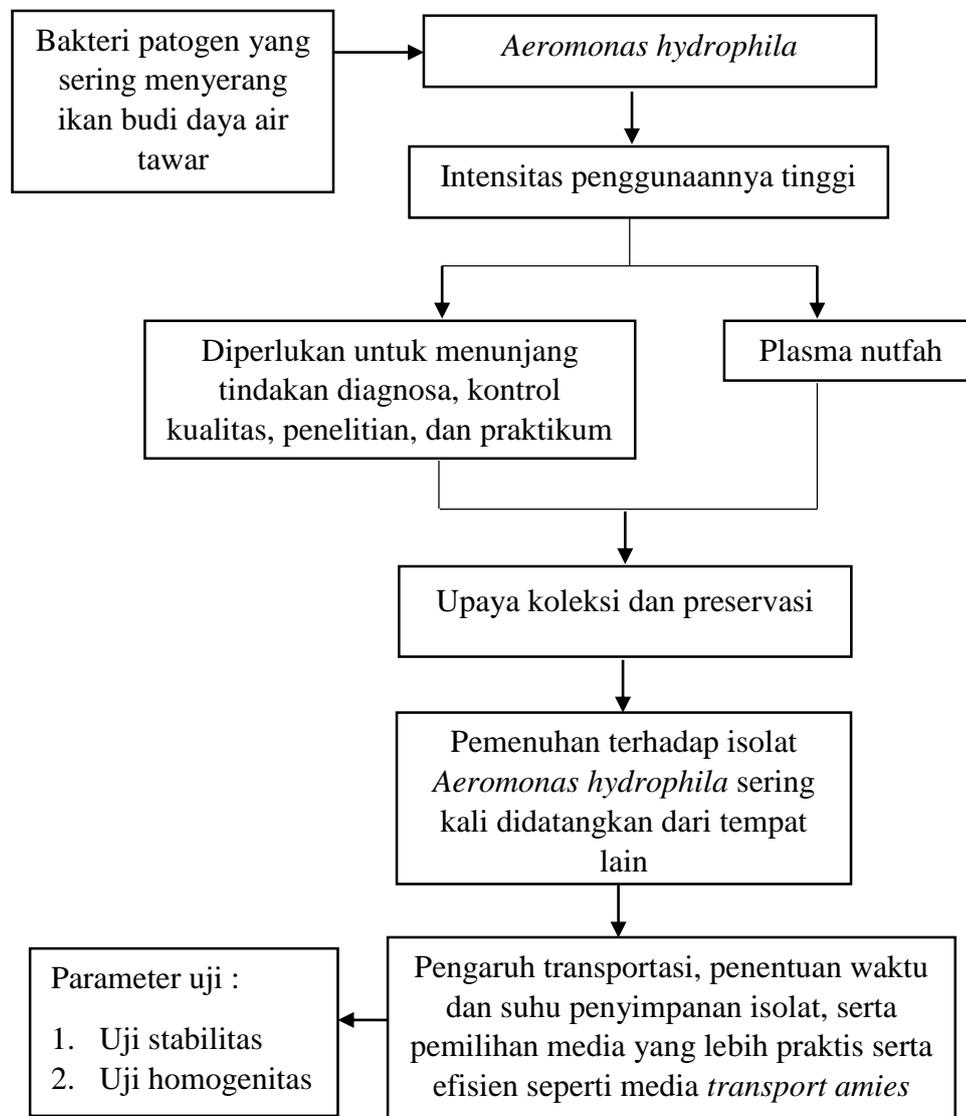
1.4 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah dengan diketahuinya homogenitas dan stabilitas isolat *Aeromonas hydrophila* yang dipreservasi di media *transport amies*, analisis di laboratorium dapat mengaplikasikan metode serta informasi penggunaan media *transport amies* yang berkaitan durasi transportasi, suhu, dan waktu inkubasi pada saat mentransportasikan dan menyimpan isolat *Aeromonas hydrophila*.

1.5 Kerangka Pikir

Kegiatan budi daya ikan tidak pernah lepas dari keberadaan penyakit, salah satunya disebabkan oleh *A. hydrophila*. Isolat bakteri yang diisolasi dari ikan intensitas ditemukannya terbilang cukup tinggi. Isolat tersebut sering digunakan sebagai bahan praktikum, penelitian, kebutuhan laboratorium untuk kontrol kualitas seperti uji profisiensi, dan sebagai plasma nutfah apabila suatu saat diperlukan. Berdasarkan tingginya kebutuhan terhadap isolat *A. hydrophila*, maka diperlukan informasi terkait teknik preservasi agar ketersediaannya selalu berkesinambungan. Di samping itu, pemenuhan kebutuhan terhadap isolat *A. hydrophila* juga sering didatangkan dari tempat lain. Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam hal ini adalah suhu, waktu, pengaruh transportasi, dan media penyimpanan yang efektif. Oleh karena itu, diperlukan penelitian terkait penentuan suhu, waktu penyimpanan yang optimum, dan pengaruh transportasi terutama pada media penyimpanan yang

lebih praktis seperti media *transport amies* agar *A. hydrophila* yang disimpan tetap homogen dan stabil.



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Aeromonas hydrophila*

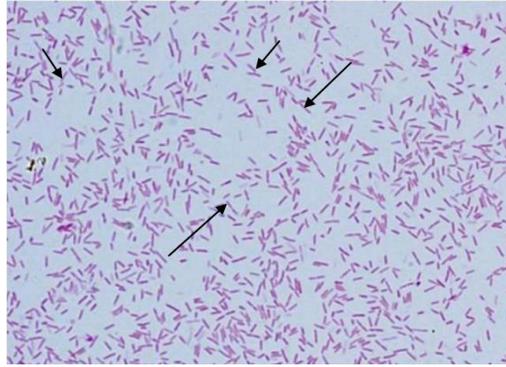
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Secara taksonomi, klasifikasi *Aeromonas hydrophila* menurut Seshadri *et al.* (2006) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Filum : Prokaryota
Kelas : Proteobacteria
Ordo : Aeromonadales
Famili : Aeromonadaceae
Genus : *Aeromonas*

Spesies: *Aeromonas hydrophila*

A. hydrophila merupakan organisme yang tidak memiliki membran inti tetapi memiliki membran plasma dengan morfologi sel berbentuk batang, ukuran sel bakteri ini adalah lebar 0,8-1,0 μm dan panjang 1,0-3,5 μm (Arwin *et al.*, 2016). Morfologi koloni *A. hydrophila* menurut Wahjuningrum *et al.* (2013) yaitu berbentuk bu-lat, elevasi cembung, tepian halus, teksturnya halus, dan berwarna krem. Bakteri ini termasuk ke dalam kelompok monotrik yaitu bakteri yang memiliki flagel tunggal yang terletak pada ujung selnya (Mali *et al.*, 2023). Flagela merupakan salah satu struktur sel yang dimiliki oleh beberapa bakteri sehingga dapat menyebabkan terjadinya pergerakan.



Gambar 2. Bentuk dan warna sel *Aeromonas hydrophila*
Sumber : Park *et al.* (2011)

2.1.2 Karakteristik dan Pertumbuhan

A. hydrophila merupakan bakteri mesofilik, fakultatif anaerob, dan bersifat oportunistik (Mali *et al.*, 2023). Bakteri mesofilik merupakan kelompok bakteri yang tumbuh optimal pada rentang suhu 20-40°C (Mangunwardoyo *et al.*, 2010). *A. hydrophila* termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram negatif. Bakteri Gram negatif memiliki peptidoglikan yang tipis sehingga dinding sel mudah lisis pada saat direaksikan dengan KOH 3% dan hal ini ditandai dengan terbentuknya lendir (Pratama *et al.*, 2023). Bakteri Gram negatif merupakan kelompok bakteri dengan sel berwarna merah muda. Hal ini disebabkan pada saat pewarnaan Gram, kelompok bakteri ini tidak dapat mempertahankan zat warna *crystal violet*. Sel bakteri Gram negatif akan berwarna merah muda setelah ditetesi dengan zat warna safranin (Amin *et al.*, 2023). Ciri-ciri *A. hydrophila* adalah oksidase positif, katalase positif, bersifat fermentatif, motil, mampu tumbuh pada suhu 37°C, tidak dapat tumbuh pada suhu 50°C, toleran terhadap konsentrasi NaCl 2-3,5%, dan mampu menghasilkan enzim gelatinase (Wulandari *et al.*, 2019). Selain itu bakteri ini mampu memfermentasikan gula dengan hasil fermentasi berupa asam dan gas. Beberapa gula yang dapat difermentasi oleh *A. hydrophila* adalah glukosa, fruktosa, maltosa, dan trehalosa (Haryani *et al.*, 2012).

Pertumbuhan *A. hydrophila* terjadi secara aseksual yaitu dengan melakukan pembelahan biner yang berlangsung secara teratur dengan penambahan secara eksponensial. Pembelahan biner adalah proses pembelahan satu sel menjadi dua sel. Pertumbuhan bakteri melalui beberapa fase di antaranya adalah fase adaptasi

(lag), fase eksponensial (log), fase stasioner (pertumbuhan stabil), dan fase kematian. Fase adaptasi merupakan fase penyesuaian bakteri dengan lingkungan yang baru. Lama waktu terjadinya fase adaptasi dipengaruhi oleh komposisi media, pH, suhu, oksigen, dan jumlah sel di awal inokulasi. Pertumbuhan pada fase eksponensial terjadi dengan sangat cepat, pada fase ini setiap sel akan membelah menjadi dua. Adapun fase stasioner adalah fase pertumbuhan yang stabil, pada fase ini laju pertumbuhan sama dengan laju kematian. Selanjutnya adalah fase kematian yang ditandai dengan terjadinya penurunan populasi. *A. hydrophila* mengalami fase adaptasi pada jam ke-0 sampai jam ke-8, fase eksponensial jam ke-10 sampai jam ke-18, fase stasioner berlangsung pada jam ke-20, dan fase kematian terjadi pada jam ke-22 sampai jam ke-24 masa inkubasi (Soniman, 2022).

2.1.3 Habitat dan Penyebaran

A. hydrophila adalah golongan patogen oportunistik yang dapat menjadi penyebab timbulnya penyakit hingga terjadi kematian masal pada kegiatan budi daya ikan. *A. hydrophila* memiliki kemampuan osmoregulasi yang tinggi sehingga mampu hidup pada rentang salinitas yang luas. Bakteri ini mampu hidup pada perairan tawar dan payau (Artati & Lubis, 2020). Secara alamiah *A. hydrophila* ada di lingkungan perairan, namun ketidakseimbangan antara lingkungan, inang, dan patogen dapat mengaktifkan patogenitasnya. Sistem kekebalan tubuh ikan akan menurun pada saat terjadinya perubahan lingkungan dan hal ini memicu perkembangan bakteri patogen untuk menginfeksi inang yang lemah.

Penyebaran penyakit MAS terbilang cukup cepat, dalam rentang waktu 1-2 minggu dapat menyebabkan terjadinya penurunan pertumbuhan dan kematian sebesar 80-100%. Ikan yang terserang penyakit MAS ditandai dengan timbulnya bercak merah, insang berwarna pucat, bola mata menonjol keluar (*exophthalmia*), terjadi pengelupasan pada kulit serta sirip, warna tubuh memucat, timbul pendarahan, dan terjadi penurunan nafsu makan (Fachiroh *et al.*, 2021). *A. hydrophila* termasuk ke dalam kelompok bakteri hemolitik yaitu bakteri yang memiliki kemampuan untuk melisis sel darah merah dan hemoglobin. Sifat hemolisis terdiri dari beberapa tipe, yaitu α -hemolisis, β -hemolisis, dan γ -hemolisis. Perbedaan sifat hemolisis bakteri ditentukan oleh kemampuan bakteri dalam melisis sel darah

merah. Bakteri yang memiliki sifat α -hemolisis memiliki kemampuan untuk melisis sel darah secara parsial. Bakteri yang memiliki sifat β -hemolisis mampu melisis sel darah secara sempurna, sedangkan kelompok bakteri γ -hemolisis merupakan bakteri yang tidak dapat melisis sel darah (Amaria *et al.*, 2023).

2.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas merupakan suatu pengujian untuk mengetahui kondisi kesamaan dari suatu bahan sebelum bahan tersebut digunakan untuk kontrol kualitas. ISO 13528:2015 menyatakan bahwa, uji homogenitas dilakukan dengan cara memilih sampel secara acak sebanyak sepuluh sampel dari total sampel yang telah disiapkan. Homogenitas dari suatu bahan penting untuk diperhatikan, karena akan menunjukkan bahwa suatu bahan yang akan digunakan sebagai kontrol kualitas dapat bersifat sama pada seluruh sampel (Aslam *et al.*, 2019). Uji homogenitas terhadap suatu bahan uji merupakan salah satu rangkaian dari uji profisiensi. Di samping itu, sebelum dilakukan uji homogenitas dan uji stabilitas untuk keperluan uji profisiensi terlebih dahulu dilakukan kegiatan *feasibility study* (Nainggolan, 2020). Kegiatan *feasibility study* merupakan uji pendahuluan untuk melihat homogenitas dan kestabilan bahan uji selama rentang waktu tertentu. Penyiapan bahan uji untuk kegiatan uji pendahuluan dilakukan seperti penyiapan bahan uji untuk uji homogenitas dan stabilitas pada uji profisiensi. Jumlah bahan uji untuk *feasibility study* menurut Grimalt *et al.* (2015) disiapkan dalam jumlah yang lebih sedikit, disesuaikan dengan kebutuhan untuk melihat homogenitas dan pengamatan kestabilan dari suatu bahan uji.

2.3 Uji Stabilitas

Salah satu rangkaian pengujian yang harus dilakukan dalam kegiatan uji profisiensi adalah uji stabilitas. Secara umum uji stabilitas dilakukan dengan tujuan untuk memastikan bahan uji tetapi stabil pada suhu dan waktu tertentu. Uji stabilitas secara *in vitro* dilakukan dengan membedakan lama waktu penyimpanan bahan uji pada kondisi suhu yang bervariasi sebagai bentuk simulasi kondisi pada saat pengiriman sampel (Angeliya *et al.*, 2020). Hal ini disesuaikan dengan kemungkinan suhu dan jarak yang bervariasi pada saat proses distribusi. Di samping

dilakukannya pengujian secara *in vitro*, uji stabilitas suatu bahan uji juga dapat dilakukan dengan cara mengirimkan bahan uji ke beberapa lokasi dengan kriteria jarak tempuh terdekat, menengah, dan terjauh dari lokasi penyelenggara uji (Nainggolan, 2020).

2.4 Media Transport Amies

Media *transport amies* merupakan media semi padat yang sering digunakan sebagai media untuk preservasi sampel mikroorganisme pada saat akan ditransportasikan ke laboratorium mikrobiologi. Media *amies* menurut Fitriana (2019) termasuk ke dalam media *transport* yang dapat menjamin kelangsungan hidup bakteri yang dipreservasi di media tersebut sebelum dilakukan pemeriksaan di laboratorium. Media ini terdiri dari dua jenis, yaitu media *transport amies* dengan tambahan kandungan arang dan media *transport amies* tanpa arang (Boiko & Krynytska, 2021). Bahan-bahan penyusun pada media *transport amies* terdiri dari 3 gr natrium klorida, 0,2 gr kalium klorida, 0,1 gr kalsium klorida, 0,1 gr magnesium klorida, 0,2 gr monokalium fosfat, 1,15 gr dinatrium fosfat, 1,0 gr natrium tiogikolat, 10 gr arang, 7,5 gr *bacteriological agar*, dan akuades. Viabilitas dari bakteri yang dipreservasi di dalam media *transport amies* tergantung pada suhu penyimpanan, jumlah sel, dan *strain* bakteri yang dipreservasi (Islam *et al.*, 2018). Menurut Robinson *et al.* (2012) jumlah sel dari isolat bakteri yang dipreservasi di dalam media *transport amies* dan disimpan pada suhu ruang selama dua minggu terlihat tetap stabil. Hal ini ditandai dengan tingkat kelangsungan hidup dan hasil identifikasi yang menunjukkan bakteri target yang dipreservasi di dalam media *transport*.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan November – Desember 2023 di Laboratorium Mikrobiologi Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL), Serang. Isolat *Aeromonas hydrophila* yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari bank isolat Laboratorium Bakteriologi BPKIL Serang. Isolat lokal diisolasi dari lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang dibudidayakan di Kabupaten Lebak.

3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian merupakan alat dan bahan yang digunakan untuk pengambilan sampel di lapangan dan pengujian di Laboratorium Mikrobiologi BPKIL Serang. Alat yang digunakan selama kegiatan penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Alat-alat yang digunakan selama penelitian.

No	Alat	Fungsi
1.	Bunsen	Sterilisasi alat dan area sekitar preparasi sampel.
2.	Alat bedah	Membedah sampel ikan.
3.	<i>Biological safety cabinet</i>	Tempat kerja aseptik.
4.	Cawan petri	Wadah media untuk isolasi bakteri.
5.	Jarum ose	Isolasi bakteri.
6.	<i>Infrared inoculation</i>	Sterilisasi jarum ose.
7.	Inkubator	Inkubasi isolat bakteri.
8.	Rak <i>cassette</i>	Meletakkan tabung suspensi bakteri dan kartu identifikasi.
9.	Vitek 2 Compact	Alat identifikasi bakteri.

Tabel 1. Alat-alat yang digunakan selama penelitian (lanjutan)

No	Alat	Fungsi
10.	<i>Densicheck</i>	Mengecek nilai kekeruhan suspensi bakteri.
11.	Mikro pipet (2 – 1.000 μ L)	Mengambil larutan dan koloni bakteri.
12.	Mikrotip	Menampung larutan.
13.	<i>Heat block</i>	Memanaskan isolat bakteri.
14.	<i>Centrifuge</i>	Memisahkan supernatant dan natan.
15.	<i>Vortex</i>	Homogenisasi.
16.	Spektrofotometer nanodrop	Mengecek konsentrasi dan kemurnian DNA.
17.	<i>Thermal cycler</i>	Amplifikasi DNA.
18.	Tangki elektroforesis	Memisahkan fragmen DNA.
19.	<i>Gel scanner</i>	Visualisasi pita DNA hasil elektroforesis.
20.	Komputer	Melihat hasil deteksi bakteri.
21.	<i>Bio bank freezer</i>	Menyimpan stok kerja.
22.	Refrigerator	Menyimpan bahan uji perlakuan suhu 4°C.
23.	Kamera digital	Mendokumentasikan kegiatan penelitian.
24.	Alat tulis	Mencatat hasil selama proses penelitian.

Adapun bahan-bahan yang digunakan selama penelitian uji homogenitas dan stabilitas dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Bahan-bahan yang digunakan selama penelitian.

No	Bahan	Fungsi
1.	Isolat <i>American type culture collection</i> (ATCC) <i>Aeromonas hydrophila</i> (AH) 7966	Bakteri standar.
2.	Isolat <i>Aeromonas hydrophila</i> I/685	Bakteri lokal.
3.	<i>Tryptic soy agar</i> (TSA) tawar	Media umum isolasi bakteri.
4.	Media <i>blood agar</i> (BA)	Melihat sifat hemolitik bakteri.
5.	<i>Fast lysis buffer</i>	Menjaga struktur DNA selama ekstraksi.
6.	<i>Nuclease free water</i>	Larutan berisi basa-basa nitrogen.
7.	<i>2x master mix go taq green</i>	Larutan yang mengandung DNA <i>Taq Polymerase</i> .
8.	<i>Primer forward</i>	<i>Sequences</i> yang berada sebelum daerah target.

Tabel 2. Bahan-bahan yang digunakan selama penelitian (lanjutan)

No	Bahan	Fungsi
9.	<i>Primer reverse</i>	<i>Sequences</i> yang berada setelah daerah target.
10.	<i>Gel agarose</i>	Media elektroforesis.
11.	Vitek 2 GN <i>identification card</i>	Kartu identifikasi bakteri.
12.	Larutan fisiologis	Membuat suspensi bakteri.
13.	Media <i>transport amies</i>	Media preservasi dan pengangkutan bakteri.
14.	Kontrol positif <i>A. hydrophila</i>	Kontrol positif untuk deteksi dengan PCR.
15.	Media <i>tryptic soy broth</i> (TSB)	Media untuk isolasi bakteri.
16.	KOH 3%	Uji Gram bakteri.
17.	<i>Bactident oxidase</i>	Uji oksidase bakteri.
18.	Media <i>rimler shotts</i> (RS)	Media selektif genus <i>Aeromonas</i> .

3.3 Metode Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian dengan metode eksploratif. Isolat standar ATCC AH 7966 dan isolat lokal dengan kode I/685 yang diisolasi dari wilayah Kabupaten Lebak Provinsi Banten yang terdeteksi positif *A. hydrophila* dipreservasi di dalam media *transport amies* dan dilakukan penomoran. Hasil preservasi dipilih secara acak menggunakan Microsoft Excel sebanyak sepuluh isolat sebagai bahan uji untuk uji homogenitas. Hasil preservasi isolat ATCC AH 7966 dan I/685 pada media *transport amies* diambil masing-masing sembilan isolat untuk dikirim ke Sukabumi, Kalimantan Selatan, dan Aceh untuk uji stabilitas perlakuan durasi transportasi. Selanjutnya hasil preservasi isolat ATCC AH 7966 dan I/685 diambil sebanyak masing-masing empat bahan uji untuk perlakuan suhu 4°C, 25°C, dan 37°C. Data yang didapatkan pada uji homogenitas dan uji stabilitas *Aeromonas hydrophila* pada media *transport amies* akan dianalisis secara deskriptif.

3.4 Prosedur Penelitian

Prosedur yang dilakukan selama penelitian adalah sterilisasi alat, pembuatan media, pengambilan sampel, isolasi, identifikasi menggunakan metode Vitek 2 Compact, preservasi di media *transport amies*, dan deteksi bakteri menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR).

3.4.1 Sterilisasi Alat

Peralatan yang digunakan selama penelitian dicuci terlebih dahulu, kemudian dikeringkan. Peralatan yang sudah kering dibungkus menggunakan kertas dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. Selanjutnya peralatan tersebut disterilisasi dengan autoklaf suhu 121°C, tekanan 1 atm, selama 15 menit. Peralatan yang sudah steril dikeringkan di dalam oven dengan suhu 60°C selama 24 jam.

3.4.2 Pembuatan Media

Media yang digunakan selama penelitian adalah media TSB, TSA, RS, dan media BA. Media TSB dan TSA dibuat dengan cara, serbuk media ditimbang sesuai dengan dosis yang tertera pada kemasan, kemudian dimasukkan ke dalam botol schott dan dilarutkan dengan akuades, selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf. Media RS merupakan media yang tidak boleh disterilisasi dengan autoklaf. Media RS dibuat dengan cara akuades disterilisasi sejumlah yang diperlukan, kemudian serbuk media RS dimasukkan ke dalam akuades steril dan dihomogenkan di dalam *microwave*. Media RS yang sudah homogen diberi tambahan antibiotik novobiocin kemudian dituang ke dalam cawan petri. Media BA pada dasarnya merupakan media TSA steril yang dicampurkan dengan darah domba.

3.4.3 Pengambilan Sampel Isolat Bakteri

Isolat lokal *A. hydrophila* diisolasi dari organ lele dumbo. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara melakukan pembedahan terhadap sampel lele dumbo, kemudian organ target (hati, ginjal, dan limpa) diambil menggunakan pinset dan dimasukkan ke dalam tabung corning berisi media TSB sebagai media tumbuh bakteri.

Proses pembedahan dilakukan secara aseptik dengan menggunakan api bunsen dan alat bedah steril.

3.4.4 Isolasi Bakteri

Sampel yang diisolasi di media TSB direisolasi di media RS sebagai media selektif dan media BA, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C}\pm 2$. Bakteri yang tumbuh di media RS dan BA diidentifikasi, yang diawali dengan identifikasi di tingkat genus. Koloni bakteri yang tumbuh diamati berdasarkan morfologinya meliputi bentuk, warna, elevasi, tekstur, serta dilihat dari sifat hemolitik yang terbentuk. Berdasarkan hasil pengamatan, apabila koloni yang tumbuh masih beragam bentuknya maka dilakukan pemurnian dan yang dimurnikan hanya bakteri yang berbentuk bulat, berwarna krem, elevasi cembung, memiliki sifat β -hemolisis di media BA, serta berwarna kuning di media RS. Di samping itu, dilakukan uji oksidase dan uji Gram dengan KOH 3%, kemudian dikonfirmasi dengan pewarnaan Gram untuk memastikan bakteri yang dimurnikan hanya bakteri Gram negatif. *A. hydrophila* termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram negatif (Saputra & Indrayanto, 2018). Isolat bakteri murni yang menunjukkan beberapa karakteristik *A. hydrophila* selanjutnya diidentifikasi menggunakan Vitek 2 Compact.

3.4.5 Identifikasi menggunakan Vitek 2 Compact

Tabung reaksi diisi dengan larutan fisiologis (larfis) sebanyak 3 mL, kemudian dicek menggunakan *densicheck* untuk memastikan nilai kekeruhan awal dari larfis adalah 0 *McFarland* (McF). Isolat bakteri disuspensikan ke dalam larfis dan dihomogenkan. Larutan suspensi bakteri dicek nilai kekeruhannya. *A. hydrophila* termasuk ke dalam bakteri Gram negatif dengan rentang nilai kekeruhan yang dianjurkan adalah 0,5–0,63 McF. Tabung reaksi berisi larutan suspensi bakteri dimasukkan ke dalam rak *cassette*, kemudian selang pada kartu identifikasi dimasukkan ke dalam suspensi bakteri. Nomor rak *cassette*, data isolat, dan nomor kartu identifikasi dimasukkan ke dalam sistem. Rak berisi tabung suspensi serta kartu identifikasi dimasukkan ke dalam inkubator 1 untuk mengalirkan suspensi bakteri ke dalam kartu identifikasi, kemudian dipindahkan ke dalam inkubator 2 untuk

proses inkubasi. Identifikasi menggunakan Vitek 2 Compact berlangsung selama 4-7 jam.

3.4.6 Deteksi dengan Metode *Polymerase Chain Reaction*

3.4.6.1 Ekstraksi DNA

Koloni bakteri disuspensikan ke dalam *mikrotube* yang berisi 200 μL *fast lysis buffer*, kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex*. Sampel bakteri diinkubasi pada *heat block* selama 10 menit dengan suhu 100°C. Selanjutnya sampel disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rcf selama 5 menit. Supernatan dipisahkan dari natan, kemudian supernatan tersebut dipindahkan ke *mikrotube* baru.

3.4.6.2 Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA

Mikro pipet dan *mikro drop plate* dibersihkan menggunakan alkohol 70%. Hasil ekstraksi DNA bakteri dipipet sebanyak 2 μL dan diteteskan ke dalam sumuran pada *mikro drop plate*, kemudian dimasukkan ke dalam spektrofotometer nano-drop dengan program asam nukleat *μ drop no blank*. Nilai konsentrasi yang dianjurkan adalah >100 ng/ μL dengan kemurnian DNA 1,8-2,0.

3.4.6.3 Amplifikasi

Tahap amplifikasi diawali dengan pembuatan *master mix*. *Mikrotube* dilabeli berdasarkan kode dari sampel yang diuji, kontrol negatif, dan kontrol positif, kemudian diletakkan di rak pendingin. Bahan *nucleus free water* (NFW), 2x *master mix go taq green*, *primer forward*, dan *primer reverse* dicairkan. Selanjutnya masing-masing bahan tersebut dengan total volume yang sudah diperhitungkan dimasukkan ke dalam *mikrotube* kontrol negatif dan didistribusikan ke semua *mikrotube* sampel serta kontrol positif. DNA *template* ditambahkan ke dalam larutan *master mix* sebanyak 2 μL , kemudian *mikrotube* tersebut dimasukkan ke dalam *thermal cycler* untuk proses amplifikasi. Pembuatan *master mix* dan penambahan DNA *template* dilakukan diruangan yang berbeda untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Komposisi *master mix* disajikan pada Tabel 3 dan siklus amplifikasi dengan target *A. hydrophila* disajikan pada Tabel 4.

Tabel 3. Komposisi bahan *master mix*

No	Bahan <i>master mix</i>	Volume/1 reaksi (μL)
1.	<i>Nucleaus free water</i>	8,5
2.	<i>2x mmix go taq green</i>	12,5
3.	<i>Pimer forward</i>	1
4.	<i>Primer reverse</i>	1
Total		23

Tabel 4. Siklus amplifikasi *Aeromonas hydrophila*.

Proses	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	Waktu (menit)	Siklus
<i>Pra denaturasi</i>	94	3	1
<i>Denaturasi</i>	94	1	
<i>Annealing</i>	57	1	45
<i>Extension</i>	72	1,5	
<i>Extended extension</i>	72	3	1

3.4.6.4 Elektroforesis dan Pembacaan

Gel agarose yang digunakan sebagai media untuk elektroforesis dibuat dengan cara *gel agarose* 2% dimasukkan ke dalam *erlenmeyer*, kemudian ditambahkan larutan *tris acetate* EDTA (TAE) sebanyak 100 mL dan dihomogenkan di dalam *microwave* selama 10 menit. *Gel agarose* diwarnai menggunakan DNA *stain* sebanyak 5 μL , kemudian dituang ke dalam cetakan agar dan didiamkan hingga padat. *Gel agarose* diletakkan di dalam tangki elektroforesis, kemudian ampikon DNA sampel, kontrol negatif, kontrol positif, dan *marker* dimasukkan sebanyak 5 μL ke dalam sumur-sumur yang ada pada *gel agarose*. Elektroforesis dilakukan selama 25 menit dengan tegangan listrik 100 volt. Hasil elektroforesis divisualisasikan menggunakan *gel scanner*.

3.4.7 Preservasi *Aeromonas hydrophila*

Media preservasi yang digunakan pada penelitian ini adalah media *transport amies* (BD BBL culture swab plus 220116, Copan, Brescia, Italia). Isolat bakteri yang dipreservasi terdiri dari isolat ATCC AH 7966 dan isolat I/685. Masing-masing isolat tersebut dipreservasi menjadi 28 bahan uji. Preservasi dilakukan dengan cara isolat murni berumur 24 jam dipanen menggunakan *cotton swab*, kemudian ditusukkan ke dalam media *transport amies* dan diinkubasi pada suhu 30°C.

3.5 Parameter Penelitian

3.5.1 Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan cara bahan uji yang sudah diinkubasi selama 24 jam diambil secara acak sebanyak 10 dari total 56 bahan uji yang merupakan hasil preservasi dari masing-masing isolat bakteri yang digunakan. Sampel bahan uji yang telah terpilih kemudian dilakukan pengujian meliputi uji viabilitas dan deteksi bakteri. Uji viabilitas dilakukan dengan cara masing-masing bahan uji diisolasi di media TSA dan media BA dengan metode cawan gores, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 18-24 jam. Apabila bakteri masih dapat tumbuh (viabel) maka isolat bakteri tersebut dideteksi menggunakan metode PCR dengan target *Aeromonas hydrophila*. Bahan uji dikatakan homogen jika semua sampel yang diujikan dapat tumbuh dan terdeteksi bakteri target.

3.5.2 Uji Stabilitas

Uji stabilitas pada penelitian ini terdiri dari dua perlakuan yaitu perlakuan suhu inkubasi dan pengaruh durasi transportasi. Perlakuan suhu berlangsung selama empat minggu yang dilakukan dengan cara, 12 bahan uji yang berasal dari isolat ATCC AH 7966 dan 12 bahan uji dari isolat I/685 masing-masing disimpan sebanyak empat bahan uji pada setiap suhu yaitu suhu 4°C, 25°C, dan 37°C. Satu bahan uji dari masing-masing isolat yang disimpan pada masing-masing perlakuan suhu, diambil setiap minggu untuk dilakukan pengujian meliputi uji viabilitas dan deteksi bakteri target. Perlakuan pengaruh durasi transportasi dilakukan dengan cara tiga bahan uji dari masing-masing isolat ATCC AH 7966 dan I/685 di-

kiriman ke Balai Besar Perikanan Budidaya Air Tawar (BBPBAT) Sukabumi Jawa Barat, Balai Perikanan Budidaya Air Tawar (BPBAT) Mandiangin, Kalimantan Selatan, dan Laboratorium Kesehatan Ikan Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Aceh. Bahan uji yang dikirimkan ke tiga tempat tersebut dikirimkan kembali ke Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang untuk dilakukan pengujian, meliputi uji viabilitas dan deteksi bakteri target. Bahan uji sebagai hasil preservasi isolat ATCC AH 7966 dan I/685 pada media *transport amies* dikatakan stabil apabila sampel yang diujikan masih dapat tumbuh dan terdeteksi bakteri target.

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh pada uji homogenitas dan uji stabilitas bakteri yang dipreservasi pada media *transport amies* adalah data viabilitas dan data hasil deteksi bakteri target yang kemudian akan ditabulasi dalam bentuk tabel serta gambar. Data ditabulasi menggunakan Microsoft Excel, kemudian dianalisis secara deskriptif melihat hubungan antara data pertumbuhan serta hasil deteksi bakteri dengan pengaruh suhu inkubasi durasi transportasi, dan media yang digunakan pada penelitian ini.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa isolat standar ATCC AH 7966 dan isolat lokal *Aeromonas hydrophila* dengan kode I/685, yang dipreservasi di media *transport amies* adalah 100% homogen dan 100% stabil setelah ditransportasikan ke BBPBAT Sukabumi Jawa Barat dengan waktu tempuh tujuh hari, BPBAT Mandiangin Kalimantan Selatan sepuluh hari, BPBAP Aceh enam hari, serta disimpan pada suhu 4°C, 25°C, dan 37°C selama empat minggu.

5.2 Saran

Metode dan informasi hasil pengujian homogenitas dan stabilitas isolat *A. hydrophila* yang dipreservasi di media *transport amies*, dapat digunakan oleh analis di laboratorium pada saat akan mentransportasikan isolat *A. hydrophila* dengan durasi transportasi paling lama 10 hari, dan menyimpan isolat *A. hydrophila* dengan waktu penyimpanan paling lama empat minggu. Penelitian terkait penggunaan media *transport amies* sebagai media preservasi juga perlu dilakukan pengujian lebih lanjut, dengan durasi transportasi lebih dari 10 hari dan penyimpanan pada suhu 4°C, 25°C, dan 37°C selama lebih dari empat minggu untuk mengetahui berapa lama waktu optimal penyimpanan isolat bakteri pada media ini.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah, M., Noviardani, T., Levita, J., & Suherman, S. E. 2015. Formulasi dan uji stabilitas tetes mata sulfasetamida. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi Indonesia*. 2(1): 33-44.
- Alawiah, S., Rumpaka, R., & Suwardan. 2020. Uji homogenitas dan uji stabilitas pada pembuatan serum kontrol positif newcastle disease. *Prosiding Penyidikan Penyakit Hewan*. hlm: 499-506.
- Amaria, W., Sinaga, M. S., Mutaqin, K. H., Supriadi., & Widodo. 2023. Hemolysis and hypersensitive tests ease culture collection management of antagonistic bacteria. *Journal of Tropical Plant Pests and Disease*. 23(2): 24-30.
- Amin, S. S., Ghozali, T. Z., & Efendi M. R. S. 2023. Identifikasi bakteri dari telapak tangan dengan pewarnaan gram. *Jurnal Kimia dan Ilmu Lingkungan*. 1(1): 30-35.
- Angeliya, L., Varozani, S., Srihanto, E. A., & Sari, Y. T. 2020. Uji homogenitas dan stabilitas untuk persiapan sampel uji profisiensi *newcastle disease* (rt-pcr real time) di Balai Veteriner Lampung sebagai laboratorium rujukan. *Prosiding Penyidikan Penyakit Hewan atau Obat*. hlm: 453-467.
- Artati, D., & Lubis, D. S. 2020. Deteksi gen haemolisin pada *Aeromonas hydrophila* menggunakan metode PCR (*polymerase chain reaction*) di laboratorium uji BRPI, Sukamandi. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*. 18(2): 149-152.
- Arwin, M., Ijong, F. G., & Tumbol, R. 2016. Characteristics of *Aeromonas hydrophila* isolated from tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquatic Science and Management*. 4(2): 52-55.
- Aslam, M., Supriyanta, B., & Nuryati, A. 2019. *Homogenitas dan Stabilitas Serum Sapi dengan Penggunaan Pengawet NaN3 2% yang Disimpan pada Suhu -200°C sebagai Alternatif Serum Kontrol terhadap Kadar Total Protein*. (Skripsi). Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan. Yogyakarta. 73 hlm.
- Boiko, I., & Krynytska, I. 2021. Comparative performance of commercial amies transport media with and without charcoal for *Neisseria gonorrhoeae* culture for gonococcal isolation and antimicrobial resistance monitoring in Ukraine. *Journal Germs*. 11(2): 246-254.

- Fachiroh, Z., Hidayati, I., & Jariyah, I. A. 2021. Antibacterial effectiveness of gading kuning coconut extract (*Cocos nucifera* var. *Eburnea*) in *Aeromonas hydrophila* bacteria *in vitro*. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*. 5(2): 69-77.
- Fitria, A. N., & Zulaika, E. 2018. Aklimatisasi pH dan pola pertumbuhan *Bacillus cereus* S1 pada medium MSM. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 2(1): 39-41.
- Fitriana. 2019. Preservasi bakteri *Corynebacterium striatum* menggunakan silica gel. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. hlm: 134-138.
- Grimalt, S., Harbeck, S., Shegunova, P., Seghers, J., Olsen, B. S., Emteborg, H., & Dabrio, M. 2015. Development of a new cucumber reference material for pesticide residue analysis: feasibility study for material processing, homogeneity and stability assessment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 407: 3083-3091.
- Haryani, A., Grandiosa, R., Buwono, I. D., & Santika, A. 2012. Uji efektivitas daun pepaya (*Carica papaya*) untuk pengobatan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas koki (*Carassius auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 3(3): 213-220.
- Islam, M. Z., Larsen, J., Skov, R., & Angen, O. 2018. Carry over of host nutrients during sampling enhances undersired growth of *Staphylococcus aureus* in liquid amies transport medium. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 93: 5-8.
- Isobar, J. O., & Amadi, P. U. 2010. Comparison of a modified peptone water transport medium with two commercially available transport media for the recovery of aerobes from swab specimens. *African Journal of Biotechnology*. 9(23): 3464-3467.
- ISO (*International Organization for Standardization*). 2015. ISO 13528:2015 *Statistical Methods for Use in Proficiency Testing by Interlaboratory Comparison*. Geneva.
- Karina, S., Saputri, M., & Naufal, M. 2015. Pemanfaatan ekstrak daun inai (*Lawsonia inermis* L.) sebagai bakterisida terhadap *Aeromonas hydrophila* yang menginfeksi ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*). *Depik Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan, Pesisir, dan Perikanan*. 4(3): 168-174.
- Machmud, M. 2001. Teknik penyimpanan dan pemeliharaan mikroba. *Jurnal Tinjauan Ilmiah Riset Biologi dan Bioteknologi Pertanian*. 4(1): 24-32.
- Mali, V. E. R., Jasmanindar, Y., & Santoso, P. 2023. Efektivitas daun nangka (*Artocarpus heterophyllus*) untuk pengobatan ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan*. 13(1): 289-298.

- Mangunwardoyo, W., Ismayasari, R., & Riani, E. 2010. Uji patogenisitas dan virulensi *Aeromonas hydrophila* stanier pada ikan nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) melalui postulat koch. *Jurnal Riset Akuakultur*. 5(2): 245-255.
- Massih, M. A., Planchon, V., Polet, M., Dierick, K., & Mahillon, J. 2015. Analytical performances of food microbiology laboratories critical analysis of 7 years of proficiency testing results. *Journal of Applied Microbiology*. 120(2): 346-354.
- Nainggolan, R. 2020. Titik kritis penyiapan sampel uji profisiensi residu pestisida pada matriks kadar air tinggi: studi kasus matriks stroberi. *Prosiding Pertemuan Presentasi Ilmiah Standarisasi*. hlm: 197-206.
- Park, S. Y., Nam, H. M., Park, K., & Park, S. D. 2011. *Aeromonas hydrophila* sepsis mimicking *Vibrio vulnificus* infection. *Annals of Dermatology*. 23(1): 25-29.
- Perko, B. 2011. Effect of prolonged storage and microbiological quality of raw milk. *Mjekar Stvo*. 61(2): 114-124.
- Pratama, R. A., Djauhari, R., Monalisa, S. S., & Susanti, W. 2023. Identifikasi bakteri pada beberapa jenis ikan air tawar. *Journal of Tropical Fisheries*. 17(2): 31-41.
- Putri, M., & Fauziah, N. A. 2021. Prevalensi dan intensitas parasit *Oreochromis niloticus* pada kolam budidaya di PBIAT Janti dan *Barbonymus gonionotus* di BBIAT Muntilan, Jawa Tengah. *Jurnal Enggano*. 6(1): 138-146.
- Rachmat, S. S., & Shovitri, M. 2021. Studi literatur tentang teknik liofilisasi untuk preservasi bakteri. *Jurnal Teknik ITS*. 10(2): 17-22.
- Robinson, G. L., Harris, A. D., Morgan, D. J., Pineles, L., Belton, B. M., & Shahyar, S. 2012. Survival of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin resistant *Enterococcus* spp. for an extended period of transport. *Journal of clinical microbiology*. 50(7): 2466-2468.
- Saputra, I., & Indrayanto, F. R. 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.
- Seniati, Mulyani, R., & Syahrudin. 2020. Uji Viabilitas bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan metode penyimpanan beku pada media *tryptic soy broth* (TSB) dan gliserol. *Lutjanus*. 25(2): 41-48.
- Seshadri, R., Joseph, S. W., Chopra, A. K., Sha, J., Shaw, J., & Heidelberg, J. F. 2006. Genomic sequence of *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966T. *Journal of Bacteriology*. 188(23): 8272-8282.

- Setiaji, J., Johan, T. I., & Widantari, M. 2015. Pengaruh gliserol pada media *tryptic soy broth* (TSB) terhadap viabilitas bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Dinamika Pertanian*. 30(1): 83 – 91.
- Soniman, M. 2022. Efektivitas senyawa aktif kombinasi kencur (*Kaempfer galanga*) dan ilalang (*Imperata cylindrica*) secara *in vitro* terhadap bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. *Journal of Aquatropica Asia*. 7(1): 19-33.
- Sughra, F., Rehman, M. H., Abbas, F., Altaf, I., Hassan, Z., Bhatti, A., & Ali, K. 2022. Molecular characterization and genetic analysis of aerolysin and haemolysin in *Aeromonas hydrophila* isolated from diseased *Labeo rohita* by polymerase chain reaction. *Journal of Fisheries*. 10(3): 1-5.
- Susilawati, L., & Purnomo, E. S. 2016. Viabilitas sel bakteri dengan *cryoprotectant agents* berbeda (sebagai acuan dalam preservasi *culture collection* di laboratorium mikrobiologi). *Biogenesis Jurnal Ilmiah Biologi*. 4(1): 34-40.
- Trihandani, N. K. Y. 2023. *Homogenitas, Stabilitas, dan Konfirmasi PCR Objek Uji Profisiensi E. coli Kering Beku*. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 49 hlm.
- Triswiyana, I., Permatasari, A., Juandi, & Kurniawan., A. 2022. Peningkatan kelembagaan kelompok pembudidaya ikan “Sinar Menumbing” di Desa Air Belo, Kecamatan Muntok, Kabupaten Bangka Barat. *Jurnal Penyuluhan Perikanan dan Kelautan*. 16(1): 33-44.
- Ulkhag, M. F., Budi, D. S., & Rahayu, N. N. 2020. The effect of temperature, salinity and antimicrobial agent on growth and viability of *Aeromonas hydrophila*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 411(1): 1-5.
- Wahjuningrum, D., Astrini, R., & Setiawati, M. 2013. Pencegahan *Aeromonas hydrophila* pada benih ikan lele menggunakan bawang putih dan meniran. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 12(1): 86-94.
- Wang, G., Clark, C. G., Liu, C., Pucknell, C., Munro, C. K., Kruk, T. M. A. C., Caldeira, R., Woodward, D. L., & Rodgers, F. G. 2003. Detection and characterization of the hemolysin genes in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* by multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 41(3): 1048-1054.
- Wulandari, T., Indrawati, A., & Pasaribu, F. 2019. Isolasi dan identifikasi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele (*Clarias gariepinus*) pertambakan Muara Jambi, Provinsi Jambi. *Jurnal Medik Veteriner*. 2(2): 89-95.
- Yuasa, K., Panigoro, N., Bahnan, M., & Kholidin, E. B. 2003. *Panduan Diagnosa Penyakit Ikan: Teknik Diagnosa Penyakit Ikan Budidaya Air Tawar di Indonesia*. BBAT Jambi dan JICA. Jambi. 78 hal.