

Deteksi jumlah dan uji patogenitas *Vibrio* spp. pada kerang hijau (*Perna viridis*) dikawasan wisata Pantai Yogyakarta

Detection of the number and pathogenicity of *Vibrio* spp. on green mussels (*Perna viridis*) in the tourist area of Yogyakarta

FARIDA HIKMAWATI^{1*}, ARI SUSILOWATI², RATNA SETYANINGSIH³

¹Program Biosain, Fakultas Pascasarjana, Universitas Sebelas Maret Surakarta. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah.

Tel./fax. +62-271-663375. *email: ithe_tha@ymail.com

³Program Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah, Indonesia

Manuskrip diterima: 18 Oktober 2018. Revisi disetujui: 21 Maret 2019.

Abstrak. Hikmawati F, Susilowati A, Setyaningsih R. 2018. Deteksi jumlah dan uji patogenitas *Vibrio* spp. pada kerang hijau (*Perna viridis*) dikawasan wisata Pantai Yogyakarta. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon* 5: 334-339. Pantai Yogyakarta merupakan salah satu kawasan wisata Indonesia yang diminati para wisatawan lokal dan mancanegara dengan tujuan keindahan pantai serta dimanjakan dengan hidangan kuliner. Kerang hijau (*Perna viridis*) merupakan salah satu hasil perikanan yang digemari para wisatawan selain rasa yang enak dan ekonomis, kerang juga memenuhi kebutuhan protein para konsumen. Dalam 100 gram daging kerang hijau terkandung 21,9% protein yang sebanding dengan telur ayam. Kerang hijau memiliki sifat *filter feeder* yang mengakibatkan bakteri patogen terakumulasi dengan kadar relatif tinggi. Bakteri yang ditularkan melalui makanan hasil laut akan menyebabkan terjadinya penyakit *foodborne diseases* yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* spp. antara lain *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, dan *V. vulnificus*. Di Indonesia selama tahun 2013, telah tercatat yaitu 48 kejadian keracunan pangan yang terdiri dari 1.690 orang sakit dan 12 orang lainnya meninggal dunia. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui jumlah bakteri *Vibrio* spp. berdasarkan uji TPC (*Total Plate Count*) disesuaikan dengan standar BPOM Nomor HK.00.06.1.52.4011 tahun 2009 dan mengetahui sifat patogenitas bakteri *Vibrio* spp. dengan media BAP (*Blood Agar Plate*) untuk mendeteksi kemampuan hemolisa bakteri. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental yang dilakukan pada bulan Mei 2018 pada 3 titik pengambilan sampel yang memiliki kondisi berbeda (segar, tidak segar, dan direbus) di kawasan wisata pantai Yogyakarta. *Vibrio* spp. dapat ditumbuhkan pada media agar selektif TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Sucrose*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kerang yang terdapat pada 3 titik lokasi terdeteksi *Vibrio* spp. dengan jumlah bakteri *Vibrio* spp. terendah yaitu L₃K₃ (Kwaru rebus) dengan jumlah 0,002 x 10⁵ CFU/gr sedangkan jumlah *Vibrio* spp. tertinggi adalah sampel L₁K₂ (Depok tidak segar) yaitu 0,686 x 10⁵ CFU/gr. Dari total bakteri seluruhnya didapatkan 23 koloni berbeda berdasarkan morfologi koloni (bentuk, elevasi, tepi, warna). Uji patogenitas diperoleh 5 dari 23 koloni yang positif menunjukkan hasil β-hemolisis. yaitu L₁K₂, L₁K₃, L₂K₁, L₂K₂, L₃K₂.

Kata kunci: *Foodborne diseases*, patogenitas, *Perna viridis*, TPC, *Vibrio*

Abstract. Hikmawati F, Susilowati A, Setyaningsih R. 2018. Detection of the number and pathogenicity of *Vibrio* spp. on green mussels (*Perna viridis*) in the tourist area of Yogyakarta. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon* 5: 334-339. Yogyakarta Beach is one of Indonesia's tourist areas that attracts local and foreign tourists for its beauty of the beach and delicacy of seafood dishes. Green mussels are the result of marine fisheries that are favored by tourists due to not only the delicious taste of shellfish but also high amount of protein needed by consumers. In 100-gram meat of green mussel contains 21.9% protein which is comparable to chicken eggs. Green mussels have filter feeder properties which cause microorganisms including pathogenic bacteria accumulated at relatively high levels. Bacteria spread through seafood will cause foodborne diseases caused by *Vibrio* spp. including *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, and *V. vulnificus*. In Indonesia during 2013, there were 48 food poisoning events consisting of 1.690 sick people and 12 others died. The purpose of this study was to determine the number of *Vibrio* spp. bacteria based on the TPC (*Total Plate Count*) test adjusted to Indonesia National Agency of Drug and Food Control (NADFC) standards Number HK.00.06.1.52.4011 in 2009 and to know the pathogenicity of *Vibrio* spp. with BAP (*Blood Agar Plate*) media to detect bacterial hemolysis ability. This study uses an experimental method conducted in May 2018 at 3 sampling points that have different conditions (fresh, not fresh, and boiled) in the beach area tourism of Yogyakarta. *Vibrio* spp. can be grown on the selective agar medium TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Sucrose*). The results show that 3 green mussels located in 3 beaches are detected with *Vibrio* spp. The lowest *Vibrio* spp. are L₃K₃ (Kwaru boiled) with a number of 0.002 x 10⁵ CFU / gr while the highest number of *Vibrio* spp. is the L₁K₂ sample (Depok is not fresh) which is 0.686 x 10⁵ CFU/gr. From total bacteria, 23 different colonies are obtained based on colony morphology (shape, elevation, edge, color). Pathogenicity test is obtained by 5 out of 23 colonies which show the results of β-hemolysis. namely L₁K₂, L₁K₃, L₂K₁, L₂K₂, L₃K₂.

Keywords: *Foodborne diseases*, patogenitas, *Perna viridis*, TPC, *Vibrio*

PENDAHULUAN

Pantai Yogyakarta merupakan salah satu tempat wisata yang dipadati para wisatawan dengan tujuan keindahan pantai serta dimanjakan dengan hidangan *seafood*. Kerang hijau adalah hasil perikanan laut yang digemari para wisatawan selain rasa yang enak kerang juga memenuhi kebutuhan protein para konsumen. Kerang hijau (*Perma viridis*) tergolong dalam binatang lunak (*filum Mollusca*) biasa disebut dengan *green mussels*, bercangkang dua dan memiliki warna hijau kecoklatan (Wati 2014). Kerang hijau memiliki nilai kandungan gizi yang baik untuk dikonsumsi, yaitu terdiri dari 49,8% air, 15,5% lemak, 18,5% karbohidrat, 4,3% abu, dan 21,9% (Eshmat et al. 2014). Kerang hijau memiliki sifat *filter feeder* yang mengakibatkan mikroorganisme termasuk bakteri patogen terakumulasi dengan kadar relatif tinggi pada tubuh kerang hijau (Murdinah 2009). Bakteri yang ditularkan melalui makanan hasil laut akan menyebabkan terjadinya penyakit salah satunya adalah *foodborne diseases*.

Foodborne diseases merupakan penyakit akibat pangan yang terjadi setelah mengkonsumsi makanan, umumnya disebut keracunan akibat adanya kontaminasi oleh bakteri patogen (BPOM 2009), menurut Davies et al. (2011), sebanyak 10-20% kasus *foodborne diseases* yang ditularkan melalui makanan hasil laut disebabkan oleh bakteri *Vibrio spp.* Penelitian Nor et al. (2015), yang menunjukkan hasil bahwa sampel kerang hijau yang diperiksa menunjukkan adanya bakteri *Vibrio spp.*

Bakteri *Vibrio spp.* akan tumbuh dan berkembang baik pada kondisi pH optimum yaitu antara 7,0 - 7,5 dan suhu optimum pertumbuhan 37°C (Supardi dan Sukanto 1999). Nitimulyo et al. (2005), menyatakan bahwa bakteri dari genus *Vibrio* yang baru saja ditemukan antara lain *V. anguillarum*, *V. alginolyticus*, *V. ordalli*, *V. salmonicida*, *V. damsel*, *V. carchariae*, *V. cholera*, *V. fluvialis*, *V. parahaemolyticus*, *V. metchnikovii* dan *V. furnisii*. Beberapa spesies *Vibrio* patogen antara lain *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. carchariae*, *V. damsel*, *V. ordalli*, dan *V. vulnificus*. Penelitian yang dilakukan oleh Supardi dan Sukanto (1999) menyatakan terdapat tiga macam jenis spesies *Vibrio* yang dapat mengakibatkan *foodborne diseases* pada manusia antara lain *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, dan *V. vulnificus*. Standar ketentuan untuk meminimalisir terjadinya *foodborne diseases*, ditentukan oleh Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Republik Indonesia Nomor HK.00.06.1.52.4011 tahun 2009 untuk jumlah bakteri *Vibrio spp.* yang terkandung didalam makanan yang dapat dikonsumsi yaitu *Vibrio/25g CFU/g*.

Dari permasalahan yang ada dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui jumlah bakteri *Vibrio* menggunakan teknik TPC (*Total Plate Count*). Selanjutnya penggunaan media agar darah yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengisolasi mikroorganisme patogen dan juga digunakan untuk mendeteksi dan membedakan kemampuan hemolisa bakteri. Daya hemolisis merupakan tes pendugaan terhadap kelompok bakteri tertentu yang selalu dihubungkan dengan kemampuan kuman menyebabkan infeksi.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jumlah bakteri *Vibrio spp.* berdasarkan uji TPC (*Total Plate Count*) disesuaikan dengan standar BPOM Nomor HK.00.06.1.52.4011 tahun 2009 dan mengetahui sifat patogenitas bakteri *Vibrio spp.* dengan media BAP (*Blood Agar Plate*) untuk mendeteksi kemampuan hemolisa bakteri.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan sampel

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni 2018, yang bertempat pada beberapa pantai wisata yaitu pantai Depok, pantai Goa Cemara, dan pantai Kwaru. Untuk uji lebih lanjut penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Genetika FMIPA Universitas Sebelas Maret. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen. Penentuan dilakukan pada hasil perikanan berupa kerang hijau yang diambil pada tiga titik di kawasan pantai wisata Yogyakarta sebanyak 9 sampel. Sampel dimasukan ke dalam plastik klip steril dengan rapi kemudian dimasukkan ke dalam *Cooler box* pendingin yang berisi *Ice gel* agar kualitas kerang hijau masih tetap terjaga hingga tiba dilaboratorium

Alat dan bahan

Sumber isolat bakteri *Vibrio spp.* dari sampel kerang hijau yang diambil dari kawasan wisata pantai Yogyakarta Media uji yang digunakan untuk isolasi bakteri *Vibrio* adalah TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose*). Media BAP (*Blood Agar Plate*) untuk mendeteksi kemampuan hemolisa bakteri. Alat-alat yang digunakan mikropipet 10, 100, dan 1000ml, LAF (*Laminar Air Flow*), *autoclave*, inkubator suhu ruang, timbangan digital, penggaris, vortex, *hoteplate*, stirer, mikroskop binokuler, setrifuse (*eppendorf*), *counter plate*, mikrosentrifuge, erlemeyer, water bath, mortir, tabung reaksi, cawan petri, batang pengaduk, gelas ukur, drigalski, bunsen, jarum ose, timbangan digital dan *colony counter*.

Isolasi dan pemurnian

Isolasi dilakukan dengan menumbuhkan pada Media TCBS, Pengenceran isolat bakteri *Vibrio spp.* dengan menggunakan tiga kali pengenceran yaitu 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} . selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi terbalik (Lindow et al. 1982). Koloni yang dicurigai bakteri *Vibrio spp.* yaitu dengan munculnya koloni bakteri berbentuk bulat berukuran sekitar 2-3 mm. Selanjutnya koloni diambil dengan menggunakan jarum ose dan dipindahkan dengan teknik *streak plate* ke dalam medium agar miring TCBS untuk dilakukan pemurnian kemudian diinkubasi pada suhu 37°C (Wayan 2015).

Perhitungan dan uji patogenitas

Perhitungan jumlah bakteri *Vibrio* yang ada pada kerang dilakukan untuk mengetahui jumlah bakteri yaitu dengan teknik Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) atau Total Plate Count (TPC) pada sampel kerang hijau pada kawasan wisata pantai Yogyakarta. Koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media TCBS yang terdapat di

cawan petri dihitung dengan menggunakan *colony counter*. Jumlah koloni bakteri yang dihitung pada cawan petri adalah 25-250 koloni. Koloni total dihitung dengan menggunakan metode Harrigan berdasarkan (BSN 2006) dengan menggunakan rumus :

$$N = \frac{\sum c}{[(1 \times n_1) + 0.1 \times n_2]} \times (d)$$

Keterangan :

- N = Jumlah koloni produk, dinyatakan dalam koloni per mL
 $\sum C$ = Jumlah Koloni pada semua cawan petri yang dihitung
 N = Jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung
 n2 = Jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung
 d = pengenceran pertama yang dihitung

Uji patogenitas dilakukan dengan menggunakan media BAP (*Blood Agar Plate*) untuk mendeteksi kemampuan hemolisa bakteri dan teknik yang dilakukan adalah *streak plate*. Terdapat tiga jenis hemolisis yaitu beta hemolisis, alfa hemolisis, dan gamma hemolisis. Beta hemolisis merupakan lisis lengkap sel darah merah dan hemoglobin, alfa hemolisis mengacu pada lisis parsial/lisis sebagian dari sel darah merah dan hemoglobin, gamma hemolisis yaitu tidak terjadi hemolisis dimana tidak ada perubahan warna dalam media (Buxton 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Populasi bakteri *Vibrio* spp.

Media TCBS *agar plate* umumnya digunakan untuk menumbuhkan koloni *Vibrio* dengan memunculkan warna kuning dengan koloni yang berukuran besar, halus, keping, jernih, memiliki tepi yang tipis, dilingkari oleh zona yang berwarna kuning, dan sebagian koloni yang terbentuk memiliki warna hijau dapat dilihat pada (Gambar 1). Media agar selektif TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Sucrose*) yang merupakan media selektif dan diferensial untuk isolasi bakteri *Vibrio* seperti *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* (Oliver dan Kepper 2001). Media ini terdiri dari garam empedu yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri non target, natrium klorida (NaCl) yang merupakan media optimal bagi pertumbuhan halofilik dan sodium trisulfat yang merupakan sumber sulfur dan *ferric citrate* digunakan untuk mendeteksi produksi H₂S. Hasil Penelitian menunjukkan terdeteksinya bakteri *Vibrio* spp. dengan munculnya isolat bakteri yang tumbuh dengan warna yang dimiliki yaitu hijau dan kuning sama seperti ciri karakteristik bakteri *Vibrio* spp pada umumnya yang tumbuh pada media selektif TCBS. Media agar TCBS merupakan media selektif yang dapat membedakan *Vibrio* spp. Ke dalam dua kelompok yaitu kelompok *Vibrio* spp. yang dapat memfermentasi sukrosa ditandai dengan koloni berwarna kuning dan kelompok *Vibrio* spp. yang tidak dapat

memfermentasi sukrosa ditandai dengan bakteri berwarna hijau (Sethi 2014).

Hasil perhitungan bakteri *Vibrio* spp. yang ditunjukkan dengan teknik pengujian TPC menunjukkan jumlah bakteri yang terdapat dalam suatu produk dengan cara menghitung koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar TCBS dengan menggunakan *Colony Counter*, hasil jumlah koloni yang didapat disesuaikan berdasarkan SPC (*Standard Plate Count*).

Pertumbuhan koloni pada 9 sampel kerang hijau dengan 3 titik lokasi dan 3 kondisi berbeda yang terdapat pada kawasan pantai wisata Yogyakarta yang ditunjukkan pada (tabel. 1) didapatkan jumlah bakteri tertinggi adalah bakteri *Vibrio* spp. di pantai Depok dengan kondisi tidak segar (L₁K₂) dengan jumlah 0,686 x 10⁵ CFU/g, sedangkan koloni bakteri yang terendah dengan jumlah 0,002 x 10⁵ CFU/g pada lokasi pantai Kwaru dengan kondisi kerang yang telah direbus (L₃K₃). *Vibrio* spp. dengan jumlah bakteri yang melewati ambang batas standar (BPOM).

Koloni bakteri terbanyak yang terdapat pada kerang di kawasan pantai yogyakarta yaitu kerang dengan kondisi yang sudah tidak segar, ditunjukkan pada diagram (gambar 2), dimana pada ke tiga pantai yaitu pantai Depok, pantai , Goa cemara, dan pantai Kwaru dengan kondisi tidak segar menempati jumlah tertinggi dari kondisi kerang segar maupun dengan kondisi yang sudah direbus. Sedangkan pada kondisi kerang yang telah direbus atau dalam kondisi yang telah melewati proses pemasakan memiliki jumlah populasi bakteri terendah dibanding dengan kondisi yang lainnya. Hal ini disebabkan karena kerang yang telah direbus sudah melewati proses pemanasan dimana seharusnya bakteri *Vibrio* tidak dapat tumbuh sama sekali (Ananta et al. 2011). Feriandika et al. (2014) menyatakan bahwa suhu optimum untuk bakteri *Vibrio* agar dapat tumbuh berkisar 5-44 °C, sedangkan pada suhu 50 °C keatas tu lebih dari itu akan menyebabkan bakteri itu tidak akan dapat tumbuh sehingga bakteri *Vibrio* disisi termasuk bakteri yang tidak tahan terhadap panas.

Tabel 1. Pertumbuhan koloni bakteri pada 9 sampel kerang hijau dengan 3 titik lokasi dan 3 kondisi berbeda di kawasan pantai wisata Yogyakarta

Kode sampel	\sum Koloni bakteri TPC (<i>Total Plate Count</i>) CFU/g
L1K1	0,374 x 10 ⁵
L1K2	0,686 x 10 ⁵ **
L1K3	0,015 x 10 ⁵
L2K1	0,245 x 10 ⁵
L2K2	0,412 x 10 ⁵
L2K3	0,011 x 10 ⁵
L3K1	0,136 x 10 ⁵
L3K2	0,317 x 10 ⁵
L3K3	0,002 x 10 ⁵ *

Keterangan: * jumlah populasi bakteri paling sedikit, ** jumlah populasi bakteri paling banyak (hasil log dalam CFU/g)

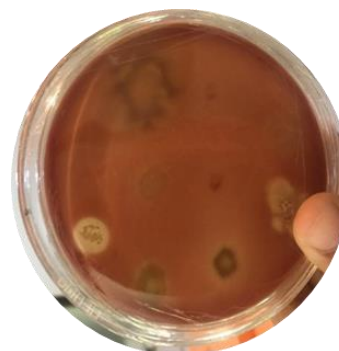


Gambar 1. Karakteristik warna isolat bakteri *Vibrio* spp.

Selanjutnya jumlah populasi bakteri *Vibrio* spp. disesuaikan dengan standar ketentuan oleh Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Republik Indonesia Nomor HK.00.06.1.52.4011 tahun 2009 untuk jumlah bakteri *Vibrio* spp. yang terkandung di dalam makanan yang dapat dikonsumsi yaitu negatif *Vibrio*/25g CFU/g. Hasil perhitungan koloni Sampel kerang hijau yang terdapat pada kawasan pantai Yogyakarta positif terdeteksi bakteri dan dari tiga tempat semua kerang melewati batas ambang yang ditentukan oleh BPOM Indonesia. Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Vibrio* dalam suatu daerah diantaranya meliputi beberapa faktor intrinsik dan ekstrinsik dimana faktor cara kerja atau proses pelaksanaan dan faktor implisit (Jesus et al. 2013). Beberapa faktor intrinsik diantaranya pH, aktivitas air (*Activity of water*), kemampuan mengoksidasi-reduksi, kandungan nutrient, bahan yang terkandung pada bakteri, dan struktur bahan makanannya yang terdapat dalam suatu wilayah tersebut. Faktor ekstrinsik yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Vibrio* adalah kondisi atau suhu penyimpanan, kelembapan, tekanan gas (O_2), cahaya dan intensitas sinar ultraviolet di wilayah tersebut (Montieri et al. 2010).

Patogenitas Bakteri *Vibrio* spp.

Berdasarkan pengamatan visual terhadap bakteri *Vibrio* spp. maka bakteri ini dapat dibedakan berdasarkan warna, bentuk, dan ukuran koloni yang tumbuh pada media TCBS agar setelah masa inkubasi 24-48 jam pada suhu kamar 30°C (Jawetz et al. 2005). Dari jumlah keseluruhan bakteri terdapat 23 jenis bakteri *Vibrio* yang berbeda seperti yang ditunjukkan pada (Tabel 2). Terdapat keberagaman koloni bakteri *Vibrio* pada suatu organisme atau dalam suatu kondisi yang mengakibatkan berbagai faktor yaitu faktor abiotik yang meliputi bakteri yang dipengaruhi untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya antara lain, temperatur, konduktivitas, derajat keasaman (pH), oksigen terlarut, dan total bahan organik yang tersedia yang menjadi hos (Ilmiah et al. 2012). Apabila dalam suatu kondisi atau tempat yang berbeda makan akan mempengaruhi keberagaman *Vibrio* yang terdapat disuatu wilayah tersebut juga berbeda sesuai kebutuhan organismenya, selain itu faktor yang mempengaruhi adalah faktor abiotik dimana kompetisi untuk mendapatkan makanan pada wilayah tersebut dan interaksi antar organisme *Vibrio* dengan spesies lain yang ada disana (Yital et al. 2007).



Gambar 2. Hasil uji hemolisis pada media BAP (*Blood Agar Plate*)

Uji Patogenitas dilakukan dengan menggunakan media BAP (*Blood Agar Plate*) untuk mendeteksi kemampuan hemolisa bakteri dan teknik yang dilakukan adalah *streak plate*. Media agar dengan konsentrasi garam yang tinggi untuk mendeteksi keaktifan hemolitik *Vibrio*. Kultur yang bersifat positif hemolisis memperlihatkan hasil β -hemolisis yang ditunjukkan pada (gambar 2) ditandai dengan adanya koloni dengan area zona bening di sekelilingnya (Fajriani et al. 2018). Terbentuknya zona bening lisis, menunjukkan bahwa isolat tersebut dapat melisis sel darah merah. Proses lisis darah yang sempurna terlihat dari zona yang benar-benar jernih. Proses hemolisis yang tidak sempurna memperlihatkan media berwarna kehijauan, proses lisis yang tidak sempurna atau tidak nyata menyebabkan tidak akan terjadinya perubahan warna pada media (Suryanto et al. 2007).

Berdasarkan hasil pengujian patogenitas bakteri *Vibrio* spp. Pada 23 isolat ditemukan 5 isolat positif menunjukkan hemolisis yaitu pada isolat L₁K₂, L₁K₃, L₂K₁, L₂K₂, L₃K₂, ditunjukkan pada (Tabel 3). Mekanisme β -hemolisis memiliki kemampuan berkembang biak lebih cepat pada saluran pencernaan dibandingkan dengan α -hemolisis yang merupakan faktor penting dalam menentukan virulen dari bakteri *Vibrio* spp. Produksi enterotoksin baik pada β -hemolisis maupun α -hemolisis dapat menentukan daya patogennya. Strain yang dimiliki β -hemolisis dapat lebih lama hidup dibandingkan dengan α -hemolisis. Hasil pengujian menunjukkan bakteri *Vibrio* yang terdapat pada 3 tempat terdapat bakteri yang patogen dengan ditandai munculnya β -hemolisis (Colwell 2005). Terjadinya penyakit sangat berkaitan dengan faktor-faktor patogenitas bakteri, kemampuan menginvasi jaringan, berkolonisasi dan kecepatan perkembangbiakan patogen, maupun pertahanan inang dalam melawan patogen (Tortora et al. 2001). Aktivitas haemolisis yang dihasilkan oleh ekstraseluler menjadikan faktor pertahanan bakteri untuk melawan pertahanan inang dengan melisis sel darah. Bakteri yang mampu bertahan, akan masuk ke dalam aliran darah sehingga menyebar ke seluruh sel tubuh inang maupun menuju organ target (Fitriatin dan Manan 2015).

Tabel 2. Karakteristik morfologi isolat bakteri *Vibrio* spp. yang terdeteksi pada sampel kerang hijau

Kode kerang	Bentuk koloni	Ukuran koloni (mm)	Elevasi koloni	Tepi koloni	Warna koloni
<i>L₁K₁ (10⁻³) ulangan 1</i>	Circular	3	Raised	Entire	Kuning
<i>L₁K₁ (10⁻³) ulangan 1</i>	Circular	3	Raised	Berpendar	Hijau
<i>L₁K₁ (10⁻²) ulangan 2</i>	Circular	2	Umbonate	Entire	Hijau kebiruan
<i>L₁K₂ (10⁻³) ulangan 2</i>	Circular	3	Flat	Entire	Hijau transparan
<i>L₁K₂ (10⁻³) ulangan 1</i>	Circular	5	Umbonate	Entire	Hijau kebiruan
<i>L₁K₃ (10⁻³) ulangan 1</i>	Circular	5	Convex	Entire	Kuning pekat
<i>L₁K₃ (10⁻³) ulangan 1</i>	Circular	2	Convex	Entire	Hijau
<i>L₂K₁ (10⁻²) ulangan 2</i>	Circular	2	Raised	Entire	Kuning
<i>L₂K₁ (10⁻²) ulangan 1</i>	Circular	4	Convex	Berpendar	Kuning pekat
<i>L₂K₂ (10⁻²) ulangan 1</i>	Circular	2	Convex	Entire	Kuning pekat
<i>L₂K₂ (10⁻²) ulangan 1</i>	Circular	3	Convex	Entire	Hijau
<i>L₂K₂ (10⁻²) ulangan 1</i>	Circular	2	Unbonate	Entire	Hijau kebiruan
<i>L₂K₃ (10⁻³) ulangan 2</i>	Circular	2	Raised	Entire	Kuning
<i>L₂K₃ (10⁻³) ulangan 2</i>	Circular	3	Convex	Entire	Kuning pekat
<i>L₂K₃ (10⁻³) ulangan 2</i>	Circular	2	Convex	Entire	Hijau
<i>L₂K₃ (10⁻³) ulangan 2</i>	Circular	2	Umbonate	Entire	Hijau kebiruan
<i>L₃K₁ (10⁻²) ulangan 1</i>	Circular	5	Convex	Entire	Kuning pekat
<i>L₃K₁ (10⁻²) ulangan 1</i>	Circular	3	Flat	Berpendar	Hijau
<i>L₃K₁ (10⁻³) ulangan 1</i>	Circular	2	Flat	Berpendar	Kuning
<i>L₃K₂ (10⁻³) ulangan 2</i>	Circular	2	Flat	Entire	Kuning
<i>L₃K₂ (10⁻³) ulangan 2</i>	Circular	3	Convex	Entire	Hijau kebiruan
<i>L₃K₃ (10⁻³) ulangan 1</i>	Circular	5	Convex	Entire	Kuning pekat
<i>L₃K₃ (10⁻³) ulangan 1</i>	Circular	2	Convex	Berpendar	Kuning

Tabel 3. Hasil uji patogenitas 5 isolat positif hemolisis

Kode kerang	Warna koloni	Zona hemolisis	Ukuran zona hemolisi (mm)	Jenis hemolisis
<i>L₁K₂ (10⁻³) ulangan 2</i>	Hijau transparan	+	1,85	β-hemolisis
<i>L₁K₃ (10⁻³) ulangan 1</i>	Kuning pekat	+	1,57	β-hemolisis
<i>L₂K₁ (10⁻²) ulangan 2</i>	Kuning	+	1,96	β-hemolisis
<i>L₂K₂ (10⁻²) ulangan 1</i>	Hijau kebiruan	+	2,11	β-hemolisis
<i>L₃K₂ (10⁻³) ulangan 2</i>	Kuning	+	1,88	β-hemolisis

Proses infeksi bakteri *Vibrio* diawali oleh proses interaksi dengan pelekatan atau adesi pada permukaan sel inang, yang diikuti dengan masuknya bakteri ke dalam sel, kemudian dilanjutkan dengan tahap invasi dan penyebaran lokal atau sistemik dalam tubuh inang. Tahap terakhir adalah pengeluaran dari tubuh inang, mulai dari tahap pelekatan hingga tahap perusakan inang, mikroorganisme menggunakan faktor virulensi antara lain oleh pili yang mengakibatkan mikroorganisme dapat bertahan dalam tubuh inang dan menimbulkan kerusakan (Zulkifli et al. 2009). Bakteri *Vibrio* mempunyai gen spesifik yaitu *toxR*. Gen *toxR* ini akan mengaktifkan gen-gen lainnya untuk memproduksi toksin berupa hemolisin seperti *thermostable direct hemolysin (tdh)* dan *thermostable direct hemolysin (trh)*. Patogenisitas *Vibrio* spp. berhubungan dengan produksi gen *tdh* dan gen *trh* ini yang memberikan respon terhadap β-hemolisis (Kurniawan 2016).

Kesimpulan

Sembilan sampel kerang hijau (*Perna viridis*) dengan tiga kondisi berbeda yang terdapat di kawasan wisata pantai Yogyakarta positif terdeteksi bakteri *Vibrio* spp. Jumlah bakteri terbanyak yang terdapat pada kerang pantai depok

dengan kondisi tidak segar dengan jumlah total koloni bakteri *Vibrio* spp. yaitu $0,686 \times 10^5$ CFU/g, sedangkan jumlah terendah yaitu $0,002 \times 10^5$ CFU/g dimiliki oleh kerang yang terdapat pada pantai Kwaru dengan kondisi sudah direbus. Hasil perhitungan koloni yang didapat dari 9 sampel melewati ambang batas standar (BPOM) Republik Indonesia Nomor HK.00.06.1.52.4011 tahun 2009 untuk jumlah bakteri *Vibrio* spp. Hasil uji patogenitas dari 23 isolat yang di uji, 5 isolat positif menunjukkan hasil β-hemolisis. yaitu *L₁K₂*, *L₁K₃*, *L₂K₁*, *L₂K₂*, *L₃K₂*.

Saran

Perlu adanya uji tambahan untuk mengetahui jenis bakteri *Vibrio* spp. pada tingkat spesies yang terdapat pada kerang hijau di kawasan wisata pantai Yogyakarta dengan menggunakan teknik molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

- Ananta WS, Wijaya P, Dhinarananta, Yuniandi A, Agus MH. 2011. Identifikasi serotipe bakteri *Vibrio cholerae* terisolasi dari es bahan pengawet ikan yang digunakan oleh pedagang hasil laut pasar modern

- dan pasar tradisional di KOTA DENPASAR. Jurnal Mikrobiologi. Fakultas Kedokteran universitas Udayana (1): 12.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2009. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan RI Nomor. HK. 00.06.1.52.4011. Tentang Penetapan Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Kimia Dalam Makanan. Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional. 2006. BSN Indonesia
- Buxton R. 2013. Blood agar plates and hemolysis protocols. American Society for Microbiology, Washington.
- Celwell RR. 2005. Global microbial ecology of *Vibrio cholerae*. In *Oceans and Health: Pathogens in the Marine Environment* (pp. 297-305). Springer, Boston, MA.
- Davies BR, Fanning GR, Madden JM, Stigerwalt G, Gradford HB, Smith HL Jr, Brenner DF. 1981. Characterisation of biochemically atypical *Vibrio cholerae* strains and designation of a new pathogenic species, *Vibrio mimicus*. J Clin Microbiol 14:631-639.
- Eshmat ME, Mahasri G, Rahardja BS. 2014. Analisa Kandungan Logam Berat Timbal (pb) dan Cadmium (Cd) pada Kerang Hijau (*Perna viridis* L.) di Perairan Ngembuh Kabupaten Gresik Jawa Timur. Jurnal Perikanan. Fakultas Perikanan dan kelautan Universitas Airlangga, Surabaya.
- Fajriani B, Budiharjo A, Pujiyanto S. 2018. Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri Antagonis Terhadap *Vibrio parahaemolyticus* Patogen pada Udang *Litopenaeus vannamei* dari Produk Probiotik dan Sedimen Mangrove di Rembang. J Biol 7(1): 52-53.
- Feriandika FB, Sarjito, Prayitno SB. 2014. Identifikasi agensia penyebab vibriosis pada penggemukan kepiting bakau (*Scylla serrata*) di pemalang. Journal of Aquaculture Management and Technology 3 (2): 126-134.
- Fitriatin E, Manan A. 2015. Pemeriksaan Viral Nervous Nevrosis (VNN) pada Ikan dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan 7(1): 2088-5842.
- Fransisca GDM, Marina TTR. 2016. Pathogenic *Vibrio* Species Isolated from Estuarine Environment (Ceara, Brazil)- Antimicrobial Resistance and Virulence Potential Profiles. J Ann Braz Acad Sci 89 (2): 1175-1188.
- Ilmiah, Sukenda, Widanarni, Enang H. 2012. Isolation and characterization of Pathogenic *Vibrio* on Tiger grouper *Epinephelus fuscoguttatus*. Jurnal Akuakultur Indonesia 11 (1): 28-37.
- Jawetz, Melnick, Adelberg. 2005. Mikrobiologi Kedokteran. Surabaya. Salemba Medika.
- Jesus L, Romalde, Ana L, Dieguez, Lasa A, Balboa S. 2013. New *Vibrio* Species Associated to Molluscan Microbiota: a review. J Front Microbiol. Universidad de Santiago de Compostela. 1664-302X.
- Kurniawan R.A. 2016. Identifikasi dan Karakterisasi Molekuler Bakteri *Vibrio* pada Ikan Air Laut di Wilayah Batam dan Mataram. [Tesis] Sains Veteriner. Program Studi Sain Verener Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Lindow SE. 1982. "Phytopathogenic Prokaryotes". In: Mount MS, Lacy GH (eds) Academic Press, New York. pp. 335-362.
- Montieri S, Suffredini, Elisabetta, Cicozza M, Luciana C. 2010. Phylogenetic and Evolutionary Analysis of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* isolated based on *toxR* Gene Sequence. J New Microbiol 33:359-372.
- Murdinah. 2009. Penanganan dan Difersifikasi Produk Olahan Kerang Hijau. Peneliti pada Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. SQUALEN 4(2).
- Nitimulyo KH, Alim I, Triyanto, Indah I, Muhammad M. 2005. Isolasi, Identifikasi dan Karakterisasi *Vibrio* spp. Patogen Penyebab *Vibriosis* Pada kerang Kerapu Di Balai Budidaya Air Payau Situbondo. Jurnal Perikanan 7(2): 80-94.
- Nor M, Najwa A, Muhd DD, Mat AKA AW, Effendy M. 2015. Detection of Virulence Genes in *Vibrio alginolyticus* Isolated from Green Mussel *Perna viridis*. Journal Teknologi. Universitas Malaysia Terengganu, Malaysia.
- Oliver JD, Kepper JB. 2001. *Vibrio* Sp. *esies*. In: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ (eds) Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. 2nd. ASM Press, Washington. pp 263-300.
- Sethi L. 2014. Pathogenicity, genetic aspects and characterization of *Vibrio* species Isolated from Marine Environment. Thesis. Department of Life Science National Institute of Technology Rourkela, Odisha.
- Supardi I, Sukanto. 1999. Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan. Yayasan Adikarya IKAPI & The Food Foundation. Penerbit Alumni, Bandung. hlm 1-290.
- Suryanto D, Irmayanti, Lubis S. 2007. Karakterisasi dan uji kepekaan antibiotik beberapa isolat *Staphylococcus aureus* dari Sumatera Utara. Majalah Kedokteran Nusantara 40(2):104-107.
- Tortora G, Funke B, Case C. 2001. Microbiology an introduction. Edisi 7. Addison Wesley Longman, Inc, United States of America. p.407.
- Wati SA. 2014. Sintesis dan Karakterisasi Hidrosiapatit dari Limbah Cangkang Kerang Bulu (*Andara antiquate*). [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatra Utara, Medan.
- Wayan IYW. 2015. Keberadaan Bakteri patogen *Vibrio cholerae* pada Beberapa Hasil Perikanan yang Dijual di Pasar Tradisional Kota Denpasar. [Tesis]. Program Studi Biologi Universitas Udayana, Denpasar.
- Yital M, Peter HF, Hammes F, Egli T. 2007. Growth of *Vibrio cholerae* O1 Ogawa Eltor in freshwater. Microbiol 153: 1993-2001
- Zulkifli YNB, Alithenn R, Son SK, Yeap MB, Lesley, Raha AR. 2009. Identification of *Vibrio parahaemolyticus* isolates by PCR targeted to the *toxR* gene and detection of virulence genes. Int Food Res J 16: 289-296.