

IDENTIFIKASI SEROTIPE BAKTERI *VIBRIO CHOLERA*E YANG TERISOLASI DARI ES BATU JENIS TUBE DAN JENIS BALOK DARI PEDAGANG MAKANAN DAN MINUMAN DI KOTA DENPASAR, BALI

IGP Dhinarananta, IGM Wijaya P, P Ananta WS, P Yuniadi A, M Agus Hendrayana

Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Udayana
Bagian/SMF Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RSUP Sanglah

ABSTRAK

Kolera merupakan penyakit dengan gejala diare cair dengan ciri khas terdapat flek-flek mukus pada feses penderita (*rice water stool*) yang disebabkan oleh bakteri gram negatif *Vibrio cholerae* (*V. Cholerae*). Transmisinya melalui air atau makanan terkontaminasi. Bali sebagai daerah tujuan wisata Internasional dimana cuaca tropis meningkatkan penggunaan es batu untuk pendingin minuman tidak menutup resiko terjangkit kolera dari penggunaan es batu. Es batu memiliki resiko kontaminasi baik dari segi pembuatan atau pemakaian. Jenis dan bentuk es batu yang sering dipergunakan diantaranya es balok dan tube dimana proses pembuatan dan penggunaan yang berbeda. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kontaminasi dan serotipe *V. cholera* pada es tube dan balok. Studi ini menggunakan metode observasional deskriptif dengan teknik pengambilan sampel *quota sampling* dimana sampel berasal dari warung makan atau warung kaki lima di Kota Denpasar yang menjual minuman yang menggunakan es batu dengan jumlah sampel 10 buah, 5 buah pada masing-masing jenis es. Es yang diperoleh kemudian dibiakkan pada *Alkaline Peptone Water* (APW) dan agar *Thiosulfate Citrate Bile salt Sucroses* (TCBS). Hasil koloni biakan kemudian diperiksa dengan pengecatan Gram dan *Latex serotyping* untuk mengidentifikasi serotipe bakteri. Hasil yang didapat dimana terdapat 3 dari 5 (60%) sampel es batu yang positif mengandung *V. cholerae* O1 serotipe Inaba sedangkan pada es tube terdapat 3 dari 5 (60%) sampel yang positif mengandung *V. cholerae* O1 serotipe Inaba.

Kata Kunci: *V. cholerae*, Bali, Es Balok, Es Tube, APW, TCBS, *Latex Serotyping*.

**SEROTYPE IDENTIFICATION OF *VIBRIO CHOLERAE*
BACTERIA WHICH ISOLATED FROM ICE AMONG TUBE AND
CUBE ICE TYPE IN FOOD AND BEVERAGES SELLER
AT DENPASAR CITY, BALI**

ABSTRACT

Cholera is a type of watery diarrhea with specific sign stool containing mucus which resembles rice water. Cholera caused by gram negative bacteria *Vibrio cholerae* (*V. Cholerae*). The transmissions of bacteria were through a contaminated food or water. Bali is an international tourism destination with tropical weather where ice is widely used in food and beverage which bring a risk of cholera through a contaminated ice. Ices have a risk of bacterial contamination whether from the making and the usage process. Type of ice that widely used were cube and tube ice which each of them have a different in making and usage process. The purpose of this study is to obtain the contamination of *V.cholera* in cube and tube ice. The method of this study is descriptive observational study with quota sampling technique. Sample were obtained from a restaurants and street vendor which use a block and tube ice with total 10 sample and 5 for each type of ice. Sample then cultured in Alkaline Peptone Water (APW) and Thiosulfate Citrate Bile salt Sucrose (TCBS) agar. Bacteriacolony then identified using a gram staining and Latex Serotyping. The result are 3 over 5 (60%) sample of cube ice contaminated by *V.cholera* O1 Inaba serotype and 3 over 5 (60%) sample of tube ice contaminated by *V.cholera* O1 Inaba serotype.

Key Word: *V. cholerae*, Bali, Block Ice, Tube Ice, APW, TCBS, *Latex Serotyping*

PENDAHULUAN

Kolera merupakan penyakit golongan gastroenteritis dimana terjadi diare berat dengan komposisi air pada feses yang banyak (tipe *watery diarrhea*). Ciri khas dari gejala penyakit kolera adalah adanya feses yang tampak seperti air cucian beras (*rice water stool*). Etiologi dari kolera adalah salah satu dari bakteri enterotoksigenik gram negatif *Vibrio cholerae* (*V. cholerae*). Infeksi *V. cholerae* dapat bersifat asimtomatik dan dapat juga terjadi infeksi yang tanpa gejala namun berpotensi menularkan.¹

Air dan makanan yang terkontaminasi dan tidak higienis termasuk es merupakan jalur transmisi utama dari *V. cholera*. Transmisi dari orang ke orang sangat jarang terjadi karena memerlukan dosis bakteri yang sangat besar. Sebagian besar penularan terjadi melalui rute fecal-oral artinya bakteri yang berasal dari feses mengkontaminasi air atau makanan yang nantinya dikonsumsi. Feses penderita kolera memiliki konsentrasi bakteri sampai 10^8 per g dan sangat menular. Selain dari feses, sumber transmisi kolera juga dapat berasal dari habitat normal dari *V. cholerae* yaitu air laut. Bakteri kolera sering didapat pada

hasil laut seperti ikan, kerang, terutama pada golongan *crustacean* seperti udang, kepiting, dan lobster^{1,2}

Kolera sering terjadi sebagai kasus yang epidemi bahkan pernah berkembang menjadi pandemi sebanyak 7 kali sejak tahun 1817. Pada abad ke-19 pandemi lebih sering berasal di daerah India dan sampai pertengahan abad ke-20 sebagian besar pandemi berasal dari Asia. Pandemi ke-7 yang terakhir, disebabkan oleh varian *V. cholerae* O1 El Tor dan bermula dari Indonesia tepatnya di Sulawesi (Celebes). Gambaran umum kasus kolera pada tahun 2009 menurut WHO terdapat 221.226 kasus dan 4.946 kematian dari 45 negara yang pernah mengalami kolera. Sebanyak 98% kasus kolera berasal dari Afrika. Pada tahun 2010 terjadi epidemi kolera di Haiti oleh karena dan hingga tanggal 13 Desember 2010 terjadi sebanyak 112.330 kasus dan 2478 kematian di Haiti. Untuk Asia terjadi sebanyak 1902 kasus pada tahun 2009 dengan angka kematian 18. Data ini mengalami penurunan sebanyak 82% dari tahun 2008 namun masih banyak data yang berasal dari Asia yang tidak dilaporkan. Dengan demikian tidak tertutup kemungkinan untuk

kembali terjadinya epidemi kolera di Asia maupun Indonesia.^{3,4}

Pulau Bali merupakan salah satu daerah tujuan wisata Internasional yang termasuk dalam kepulauan Indonesia dimanapariwisata merupakan komoditas utama dan andalan masyarakat Bali. Tidak jarang ada *Travel warning* wisata ke tujuan wisata karena penduduknya terkena penyakit infeksi menular. Salah satu infeksi menular yang dimaksud adalah kolera akibat air atau minuman yang terkontaminasi *V. cholera* terutama pada es. Es yang sering dipakai sebagai tambahan pada minuman yang dijual karena Bali yang berada pada iklim tropis dengan cuaca yang cenderung panas.^{1,5,6}

Es merupakan salah satu bahan yang dipergunakan baik sebagai bahan pendingin bahan makanan maupun juga sebagai penyegar dalam minuman. Es itu sendiri ada yang dibuat dalam bentuk balok dan ada juga yang dibuat dalam bentuk tabung/*tube* yang masing-masing dibuat dengan prosedur yang berbeda. Dalam prosesnya baik pada saat pembuatan maupun proses pemakaian, ada kemungkinan air maupun es yang telah jadi terkontaminasi oleh bakteri yang dapat menyebabkan diare salah satunya *V.*

cholerae.⁵ Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi adanya bakteri *V. cholerae* dan menentukan serotipe dari bakteri yang terisolasi dari sampel yang berupa 2 jenis es batu yang umum dipakai yaitu jenis tube dan balok sehingga nantinya dapat memberikan gambaran kontaminasi bakteri *V. cholerae* pada es batu jenis tube dan balok yang dipergunakan dalam minuman oleh warung makan dan pedagang kaki lima di Kota Denpasar.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode *observational deskripif* dengan rancangan studi eksploratif. Pengambilan sampel menggunakan teknik *nonrandom sampling* yaitu *quota sampling*. Dengan sampel yang berasal dari es batu jenis tube dan balok yang dipergunakan dalam minuman dengan jumlah 10 buah dengan dimana 5 sampel mewakili es balok dan 5 sampel mewakili es tube di warung makan dan warung kaki lima di Kota Denpasar.

Pengambilan spesimen es dari pedagang minuman dilakukan di beberapa warung makan di setiap kecamatan di kawasan Kota Denpasar, Bali. Sedangkan pemeriksaan secara mikrobiologis dilakukan di

Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Pengambilan sampel dilakukan pada tanggal 16 dan 17 Januari 2011. Persiapan sampel, media, sampai pengamatan hasil biakan dilakukan pada tanggal 17-20 Januari 2011.

Sampel es penelitian diambil sebanyak \pm 50cces yang nantinya dicampur minuman sebagai pendingin secara aseptik menggunakan alkohol 70% dan langsung dimasukkan ke dalam kantong plastik steril yang telah diberi label tanpa mencampur dengan minuman. Selanjutnya 50 mL air sampel dicampurkan pada 50 mL Alkaline Peptone Water (APW) double strength yang merupakan media penyubur untuk memberikan nutrisi dan kesempatan tumbuh bagi *V. cholerae*.⁷

Selanjutnya dilakukan teknik kultur sesuai petunjuk kit dari universitas Kobe dengan media TCBS yang selektif untuk pembiakan bakteri *V. Cholerae*⁸ dan diinkubasi selama 18-20 jam maksimum pada suhu 37°C. Kemudian dilakukan pengecatan gram pada koloni tunggal yang dicurigai merupakan koloni *V. Cholerae* yang merupakan bakteri gram negatif⁹ dan dilakukan pemeriksaan serologi dengan prosedur

latex serotyping sesuai metode Seiken dengan kit *Vibrio cholera* O1 Seiken. Identifikasi dari serotipe ini adalah menggunakan metode aglutinasi dari antisera terhadap antigen tipe spesifik dari antigen O. Serotipe Ogawa memiliki antigen tipe A dan B. Serotipe Inaba memiliki antigen tipe A dan C. Sedangkan serotype Hikojima memiliki antigen tipe A, B dan C.^{4,10} Hasil pengamatan dicatat untuk adanya serotipe *V. Cholerae* yang terisolasi baik dari es balok maupun es tube.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengambilan sampel

Sampel diperoleh dari warung kaki lima dan warung makan di Kota Denpasar dimana pengambilan sampel dengan metode aseptik tanpa dicampur dengan minuman. Adapun rangkuman karakteristik sampel dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rangkuman hasil pengambilan sampel

No. Sampel	Tipe Es	Penggunaan Es
C1	Balok	Es Jeruk
C2	Balok	Es Serut
C3	Balok	Es Buah, Es Susu, Es Gula
C4	Balok	Es Campur dan Es Gula
C5	Balok	Es Jeruk dan Es Teh
T1	Tube	Minuman Es Jeruk
T2	Tube	Minuman Es Soda, Es Jeruk
T3	Tube	Minuman Es Jeruk
T4	Tube	Minuman Es Jeruk
T5	Tube	Minuman Es Teh

Hasil proses kultur dan pengecatan gram

Bahan yang telah dicampurkan dengan APW kemudian diinkubasi selama 24 jam. Hasil inkubasi sampel pada APW dapat dilihat pada gambar 1. Seluruh sampel tampak keruh dengan aroma yang menyengat. Secara teori jika terdapat pertumbuhan bakteri maka akan terjadi pengeruhan campuran larutan APW yang semula berwarna kuning cerah menjadi kuning keruh.⁷ Seluruh sampel kemudian dilakukan kultur pada media TCBS Agar sesuai dengan prosedur isolasi dari Universitas Kobe. Hasil kultur diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam. Terdapat koloni soliter yang sebagian besar berwarna hijau dan kuning. Gambar hasil kultur pada media TCBS Agar dapat dilihat pada gambar 3. Hasil koloni soliter juga dilakukan pengecatan gram sesuai prosedur pengecatan gram dengan emoda yang telah baku kemudian dilakukan pengamatan dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x. rangkuman hasil kultur dan pengecatan gram dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rangkuman hasil kultur TCBS
Agar dan pengecatan gram.

Kode Sampel	Jumlah Jenis Koloni Yang Soliter	Warna Temuan Koloni	Gambaran Makroskopis Koloni	Hasil Pengecatan Gram
C1	1	Hijau	Cembung, Mengkilat, Kecil	Batang gram negatif
C2	2	Hijau	Cembung, Mengkilat, Kecil	Batang gram positif berspora
		Kuning	Cembung, Mengkilat, Kecil	Batang koma gram negatif
C3	2	Kuning	Datar, Mengkilat, Kecil	Batang gram negatif
		Kuning	Cembung, Pucat, Kecil	Batang gram positif berspora
C4	2	Hijau	Datar, Mengkilat, Kecil	Batang gram negatif
		Kuning	Cembung, Mengkilat, Kecil	Batang gram negatif
C5	2	Hijau	Datar, Mengkilat, Kecil	Batang gram negatif
		Kuning	Cembung, mengkilat, kecil	Batang gram negatif
T1	1	Hijau	Cembung, Mengkilat, Kecil	Batang gram negatif
T2	2	Kuning	Cembung, Mengkilat, Kecil	Batang, koma gram negatif
		Hijau	Cembung, Mengkilat Kecil	Batang gram negatif
T3	2	Kuning	Datar, Mengkilat, Kecil	Batang gram negatif
		Hijau	Cembung, Mengkilat, Kecil	Batang gram positif berspora
T4	1	Kuning	Cembung, Mengkilat, Kecil	Batang gram negatif, dan koma batang gram positif
T5	2	Kuning	Cembung, Mengkilat, Kecil	Batang gram negatif
		Hijau	Cembung, Mengkilat, Kecil	Batang gram negatif

Ket: Kecil = diameter koloni soliter < 3 mm

Pada hasil penelitian didapatkan ada beberapa koloni soliter yang berwarna kuning dengan permukaan cembung maupun datar, permukaan mengkilap dan ukuran rata-rata kecil (diameter <3mm). Secara teori, *V. cholerae* akan tampak sebagai koloni koloni berwarna kuning dengan bagian tengah yang keputihan (*opaque*) dan pinggiran sedikit bening, bulat, mengkilat, permukaan yang sedikit datar, dengan diameter 2 sampai 4 mm.⁷ Pada hasil pengamatan mikroskop pada beberapa koloni didapatkan gambaran bakteri gram negatif yang berbentuk koma batang pada sampel T2 dan T4 yang merupakan ciri khas dari bakteri *V. cholerae* yaitu merupakan bakteri batang gram negatif yang berbentuk seperti tanda baca koma.¹

Pengamatan koloni yang dicurigai mengandung *V. cholera*

Dari hasil kultur dan pengecatan gram maka di kelompokkan sampel yang dicurigai kuat merupakan koloni *V. cholerae* seperti dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Koloni bakteri yang dicurigai sebagai Koloni *V. cholerae*.

Kode Sampel	Hasil Kultur		Hasil Pengecatan Gram
	Warna	Gambaran Makroskopis	
T2	Kuning	Cembung, Mengkilat, Kecil	Batang, koma gram negatif
T4	Kuning	Cembung, Mengkilat, Kecil	Batang, koma gram negatif
T5	Kuning	Cembung, Mengkilat, Kecil	Batang gram negatif
C2	Kuning	Cembung, Mengkilat, Kecil	Batang koma gram negatif
C3	Kuning	Datar, Mengkilat, Kecil	Batang gram negatif
C4	Kuning	Cembung, Mengkilat, Kecil	Batang gram negatif

Berdasarkan tabel diatas terdapat 6 dari 10 sampel yang dicurigai terdapat koloni bakteri *V. cholerae* karena memiliki karakteristik sesuai bakteri *V. cholerae*. Koloni dari sampel ini kemudian akan dilakukan penilaian serotipe dari *V. cholerae*.

Hasil pemeriksaan serologi dengan *Latex Serotyping*

Pemeriksaan serologi dengan *Latex Serotyping* metode Seiken ini dikerjakan pada koloni yang dicurigai merupakan koloni *V. cholerae* berdasarkan pemeriksaan kultur dan Gram. Pemeriksaan tidak dilakukan

pada semua sampel karena keterbatasan alat dan bahan. Adapun hasil dari pemeriksaan serologi tertera pada tabel 4berikut.

Tabel 4. Rangkuman hasil pemeriksaan *Latex Serotyping*

No. Sampel	Hasil				Interpretasi Serotipe
	A	B	C	D	
T2	+	+			Inaba
T4	+	+			Inaba
T5	+	+			Inaba
C2	+	+			Inaba
C3	+	+			Inaba
C4	+	+			Inaba

Ket: + berarti terdapat penggumpalan pada campuran koloni dengan antisera

Pemeriksaan menggunakan metode *Latex Serotyping* dari Seiken. Hasil yang positif dimana terjadi aglutinasi atau penggumpalan antara larutan yang mengandung bakteri *V. Cholerae* dengan antigen serogrup O1 antisera A, B, atau C yang akan tampak seperti bercak-bercak penggumpalan berwarna keputihan. Penggumpalan antisera dengan sampel akan menentukan serotipe bakteri. Serotipe Ogawa memiliki antigen tipe A dan B. Serotipe Inaba memiliki antigen tipe A dan C. Sedangkan serotype Hikojima memiliki antigen tipe A, B dan C.^{4,10} Pada hasil penelitian terdapat penggumpalan campuran koloni dan antisera A dan C. Hal ini menunjukkan bahwa serotipe dari bakteri *V. cholerae* yang terisolasi adalah *V. cholerae* O1 serotipe Inaba.

Sampel yang teridentifikasi mengandung bakteri *V. cholera*

Berdasarkan hasil penelitian diatas, dapat dibuat rangkuman keseluruhan identifikasi bakteri *V. cholerae* O1 serotipe Inaba dari keseluruhan sampel yang diamati ya dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Perbandingan Jumlah sampel yang positif terdapat bakteri *V. cholerae* O1 serotipe Inaba.

Es Tube		Es Balok	
Kode Sampel	Hasil	Kode Sampe l	Hasil
T1	n/a (-)	C1	n/a (-)
T2	(+)	C2	(+)
T3	n/a (-)	C3	(+)
T4	(+)	C4	(+)
T5	(+)	C5	n/a (-)
Perbandinga n dari jumlah masing jenis es		3/5 (60%)	3/5 (60%)
Perbandinga n dari jumlah total keseluruhan		6/10 (60%)	

Ket : n/a (-) = pemeriksaan serologi tidak dilaksanakan karena tidak dicurigai

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan 3 dari 5 (60%) sampel es tube memiliki kandungan bakteri *V. cholerae* O1 serotipe Inaba dan 3 dari 5

(60%) sampel es balok juga memiliki kandungan *V. cholerae* O1 serotipe Inaba seperti ditunjukkan pada tabel 6. Dari semua sampel, terdapat 6 dari 10 (60%) sampel yang positif terdapat bakteri *V. cholerae* O1 serotipe Inaba.

DISKUSI

Persentase *V. cholerae* tergolong tinggi dan cukup membahayakan masyarakat termasuk wisatawan domestik dan mancanegara mengingat menggunakan es batu baik jenis tube maupun balok tergolong tinggi karena Bali yang beriklim tropis. Persentase yang didapatkan dalam penelitian ini cukup tinggi dan tergolong membahayakan meskipun untuk menimbulkan suatu manifestasi penyakit kolera harus ada infeksi bakteri *V. cholerae* dalam jumlah tertentu. Sesuai dengan laporan singkat Sugunan dan Roy tahun 2007 dimana wabah kolera yang terakhir berawal di Indonesia 40 tahun yang lalu sampai 2002 timbul wabah kolera di Pulau Andamar dan Nicobar, India. Pada wabah tersebut sebagian besar penyebabnya adalah bakteri *V. cholerae* O1 serotipe Ogawa Biotipe El Tor. Tahun 2006 di tempat yang sama muncul kembali kasus kolera dengan bakteri *V. cholerae* O1 Serotipe Inaba

Biotipe El Tor¹¹ Hal ini menunjukkan Kolera masih memiliki potensi menimbulkan wabah dimana bakteri *V. cholerae* O1 penyebab pada penelitian tersebut memiliki serotipe Ogawa dan Inaba.

Bakteri *V. cholerae* yang ditemukan pada penelitian adalah serogrup O1 serotipe Inaba merupakan jenis yang patogen. Hal ini sesuai seperti laporan Rajeshwari, dkk tahun 2005 juga menyebutkan dimana *V. cholerae* O1 serotipe Inaba yang muncul di Delhi India merupakan organisme dominan penyebab kolera pada anak.

Terdapat kemungkinan kontaminasi dari bakteri yang terjadi baik pada proses pembuatan maupun proses pemakaian dan penggunaan es tersebut dilapangan seperti yang terlihat pada hasil penelitian ini dimana pada 60% sampel terdapat bakteri *V. cholerae* O1 Serotipe Inaba. Hal serupa ditemukan pada penelitian yang dilakukan oleh Waturanggi, dkk di Jakarta tentang bakteri vibrio kolera pada es yang bisa dikonsumsi memperlihatkan adanya bakteri *V. cholerae* multi drug resistant yang memiliki gen virulensi pada es yang dapat dikonsumsi dimana hal ini berpotensi menimbulkan wabah.¹³ Mengenai kemungkinan

penyebab kemungkinan kontaminasi es batu baik jenis tube maupun es balok, peneliti belum dapat menemukan penelitian mengenai hal tersebut. Namun penelitian mengenai indikator sanitasi distribusi es batu di Bogor oleh Fierliyanti tahun 2006 menunjukkan adanya tingkat higienitas yang kurang saat proses distribusi es batu.¹⁴ Berdasarkan hal tersebut, ada kemungkinan kontaminasi bakteri *V. cholerae* pada es batu terjadi pada proses distribusi dan pemakaian.

SIMPULAN DAN SARAN

Adapun simpulan yang dapat ditarik dari penelitian ini adalah Pada sampel berupa es balok, terdapat 3 dari 5 (60%) jumlah total sampel es balok yang positif mengandung bakteri *V. cholerae* O1 Serotipe Inaba. Pada sampel berupa es tube, terdapat 3 dari 5 (60%) jumlah total sampel es tube yang positif mengandung bakteri *V. cholerae* O1 Serotipe Inaba. Dari jumlah total keseluruhan sampel es batu di Denpasar, Bali didapatkan 6 dari 10 (60%) jumlah total sampel yang diperoleh positif mengandung bakteri *V. cholerae* O1 serotipe Inaba.

Perlu adanya penelitian secara kuantitatif dan kualitatif dalam mengidentifikasi bakteri *V. cholerae*

dalam makanan dan minuman terutama es batu karena infeksi *V. cholerae* untuk menimbulkan manifestasi klinis penyakit memerlukan infeksi dalam kadar tertentu. Maka dari itu penting mengetahui kadar *V. cholerae* pada masing-masing sampel. Perlu dilakukan penelitian dengan jumlah sampel yang lebih besar dan mencakup pengguna es batu dalam minuman di Kota Denpasar atau dalam skala geografis yang lebih besar sehingga lebih representatif terhadap populasi.

DAFTAR PUSTAKA

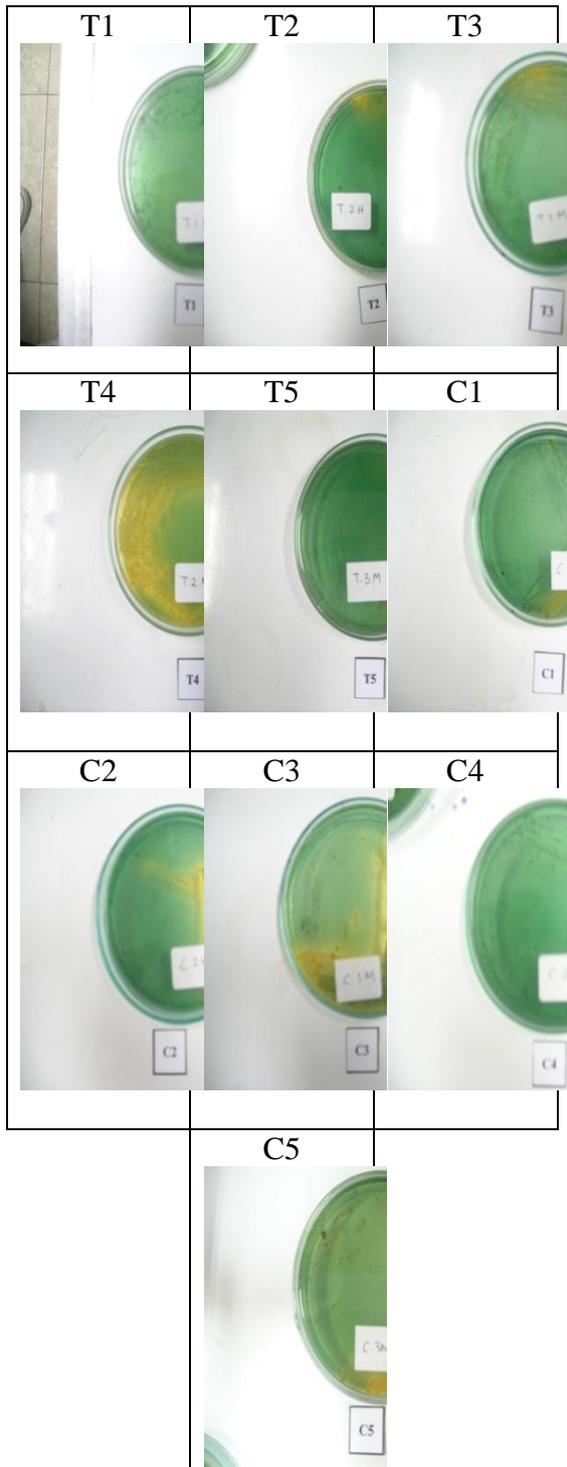
1. Ryan KJ. *Vibrio, Champylobacter, And Helicobacter*. Dalam: Ryan KJ, Ray CG, Penyunting. Sherris Medical Microbiology: an Introduction to Infectious Disease. Edisi ke 4. USA: McGraw-Hill; 2004. h.373-378.
2. Albert MJ, Morris JG. *Cholera and Other Vibrioses*. Dalam: Strickland GT, penyunting. Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Disease. Edisi ke 8. London: W.B. Saunders Company; 2000. h. 323-324.
3. World Health Organization (WHO). Weekly Epidemiological Record No. 31 Tahun ke 85 [homepage on internet]. Geneva: WHO Geneva [update 30 Juli 2010; diakses: 16 Januari 2011]. Diunduh dari <http://www.who.int/wer/2010/wer8531.pdf>
4. Handa S. Cholera: Emedicine [homepage on internet]. Medscape. [update 17 Desember 2010;diakses 16 Januari 2011]. Diunduh dari <http://emedicine.medscape.com/article/214911-overview>.
5. Graham J, Johnston WA, Nicholson FJ.FAO Fisheries Technical Paper. No. 331: Ice in Fisheries. Rome: FAO. 1992.
6. Suradnya IM. Analisis Faktor-Faktor Daya Tarik Wisata Bali Dan Implikasinya Terhadap Perencanaan Pariwisata Daerah Bali [disertasi]. Bali: STP Bali. 2005.
7. Alkaline Peptone Water. Condalab : Prodanisa Micro and Molecular Biology. [Diakses 16 Januari 2011]. Di unduh dari: <http://www.condalab.com/pdf/1407.pdf>.
8. Merck Manual of Microbiology 12th edition. [Diakses pada 16 Januari 2011]. Diunduh dari; http://www.mibius.de/out/oxbaseshop/html/0/images/wysiwigpro/TCBS_Agar_110263_engl.pdf.
9. Rao S. Gram Staining. Davagree: JJMMC [Diakses 18 Januari 2011]. Diunduh dari <http://www.microrao.com/micronotes/pg/Gram%20stain.pdf>.
10. Laboratory Methods for the Diagnosis of *Vibrio cholerae* Chapter 6. Centers for Disease Control and Prevention (CDC); 2010 [Diakses 11 januari 2011]. Diunduh dari <http://www.cdc.gov/cholera/pdf/Laboratory-Methods-for-the-Diagnosis-of-Vibrio-cholerae-chapter-6.pdf>.
11. Sugunan AP, Roy S. Emergence of *Vibrio cholerae* O1 Inaba in Andaman and Nicobar Islands, India. Journal of Public Health. 1 Juni 2007;29(3):hal.308-9.
12. Rajeshwari, Gupta A, Dubey AP, Uppal B, Sighh MM. Diarrhoeal outbreak of *Vibrio cholerae* O1 Inaba in Delhi. Trop Doc. 2008;39(2):hal.105-107.
13. Waturanggi DE, Melissa, Suhartono EX, Wijaya YF. Distribution of virulence genes and antibiotic resistance of *Vibrio cholerae* obtained from edible ice in Jakarta, Indonesia. J. Med. Microbiol. 2012 : jmm.0.048769-0v1-jmm.0.048769-0.
14. Firlieyanti AM. Evaluasi Bakteri Indikator Sanitasi Di Sepanjang rantai Distribusi Es Batu di Bogor. JIPI. 2006;11(2):hal.28-36



Gambar 1. Contoh hasil campuran sampel dengan APW setelah inkubasi selama 18-24 jam. Terlihat adanya pengeruhan dimana sebelumnya cairan berwarna kuning cerah.



Gambar 2. Contoh Hasil Pengecatan Gram pada koloni bakteri yang ditemukan. Sebagian bakteri yang ditemukan adalah bakteri berwarna merah muda yang menandakan bakteri Gram negatif.



Gambar 3. Gambaran hasil kultur pada sampel T4. Terlihat adanya koloni bakteri berwarna kuning yang dicurigai sebagai koloni *V. cholerae*.