

**RESISTENSI BAKTERI *Vibrio* spp. TERHADAP ANTIBIOTIK  
OKSITETRASIKLIN, ERITROMISIN, DAN CIPROFLOKSASIN**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**BERNIKA VINA AUDIA  
NPM 1814111025**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

## ABSTRAK

### RESISTENSI BAKTERI *Vibrio* spp. TERHADAP ANTIBIOTIK OKSITETRASIKLIN, ERITROMISIN, DAN CIPROFLOKSASIN

Oleh

**Bernika Vina Audia**

*Vibrio* merupakan bakteri penyebab penyakit vibriosis pada ikan maupun udang. Penggunaan antibiotik yang kurang bijak dalam menanggulangi vibriosis dapat menyebabkan bakteri justru mengalami resistensi. Tujuan dari penelitian ini yaitu menganalisis dan mengkaji sifat resistensi bakteri *Vibrio* spp. terhadap antibiotik yang sering digunakan dalam kegiatan budi daya perikanan. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2022 – Januari 2023 yang bertempat di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Universitas Lampung. Dua isolat bakteri *Vibrio* yaitu *V. parahaemolyticus* yang didapatkan dari Balai Veteriner Lampung dan *Vibrio* sp. yang isolasi dari perairan sekitar tambak di Pantai Sebalang, Lampung Selatan. Kedua isolat bakteri *Vibrio* ditumbuhkan dalam medium NA dan diuji sensitivitasnya terhadap tiga antibiotik oksitetrasiklin, eritromisin, dan ciprofloksasin menggunakan kertas cakram dan dilanjutkan dengan uji MIC dan MBC dari ketiga antibiotik terhadap kedua isolat *Vibrio*. Uji resistensi bakteri dilakukan selama 30 hari dengan menumbuhkan bakteri pada media NB yang sudah ditambahkan masing-masing antibiotik dengan dosis mengacu pada hasil MIC. Sebagai kontrol adalah bakteri yang ditumbuhkan pada media NB tanpa penambahan antibiotik. Pengambilan sampel untuk menghitung kepadatan bakteri dilakukan sebanyak 4 kali, yaitu pada hari ke-1, ke-7, ke-14, dan ke-30. Kepadatan bakteri dihitung menggunakan UV spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm dengan mengacu pada standar 0,5-8 McFarland, masing-masing dengan 2 kali ulangan. Hasil penelitian yang didapat menunjukkan bahwa adanya resistensi bakteri uji terhadap antibiotik jenis oksitetrasiklin, eritromisin, dan ciprofloksasin dilihat dari nilai total kepadatan bakteri yang meningkat. Bakteri *V. parahaemolyticus* memiliki sifat resistensi tertinggi karena nilai total kepadatan bakteri terus meningkat.

**Kata kunci:** *V. parahaemolyticus*, *Vibrio* sp., resistensi, antibiotik, uji *in vitro*.

## ABSTRACT

### THE RESISTANCE OF *Vibrio* spp. TO ANTIBIOTICS OF OXYTETRACYCLIN, ERYTHROMYCIN, AND CIPROFLOXACIN

By

**Bernika Vina Audia**

*Vibrio* is a bacterium that causes vibriosis in fish and shrimp. The use of antibiotics that are not wise in tackling vibriosis can cause bacteria become resistant. The purpose of this study was to analyze and examine the resistance of *Vibrio* spp. to antibiotics that were often used in aquaculture. This research was carried out in December 2022 – January 2023 at the Aquaculture Laboratory, Department of Fisheries and Marine Affairs, University of Lampung. Two isolates of *Vibrio* bacteria were *V. parahaemolyticus* obtained from veterinary center of Lampung and *Vibrio* sp. the isolation of the waters around the pond at Sebalang Beach, South Lampung. The two isolates of *Vibrio* bacteria were grown in NA medium and tested for sensitivity to three antibiotics oxytetracyclin, erythromycin, and ciprofloxacin using paper discs and followed by MIC and MBC tests of the three antibiotics against both isolates *Vibrio*. The bacterial resistance test was conducted for 30 days by growing bacteria on NB media that had been added to each antibiotic with a dose referring to the MIC results. As a control was bacteria grown on NB media without the addition of antibiotics. Sampling to calculate the density of bacteria was carried out 4 times on the 1st, 7th, 14th, and 30th days. Bacterial density was calculated using a UV spectrophotometer at a wavelength of 625 nm with reference to the standard 0,5-8 McFarland, each with 2 repetitions. The results showed that the resistance of test bacteria to antibiotics such as oxytetracycline, erythromycin, and ciprofloxacin seen from the value of the total bacterial density increased. Bacteria *V. parahaemolyticus* had the highest resistance because the value of the total bacterial density is constantly increasing.

**Keywords:** *V. parahaemolyticus*, *Vibrio* sp., resistance, antibiotics, in vitro assays.

**RESISTENSI BAKTERI *Vibrio* spp. TERHADAP ANTIBIOTIK  
OKSITETRASIKLIN, ERITROMISIN, DAN CIPROFLOKSASIN**

**Oleh**

**BERNIKA VINA AUDIA**

**Skripsi**

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

**Pada**

**Jurusan Perikanan dan Kelautan  
Fakultas Pertanian**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

Judul : RESISTENSI BAKTERI *Vibrio* spp.  
TERHADAP ANTIBIOTIK OKSI-  
TETRASIKLIN, ERITROMISIN, DAN  
CIPROFLOKSASIN

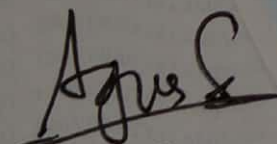
Nama : Bernika Vina Audia

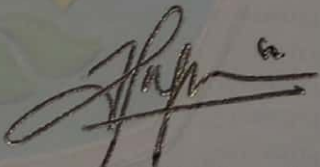
Nomor Induk Mahasiswa : 1814111025

Jurusan/Program Studi : Perikanan dan Kelautan/Budidaya Perairan

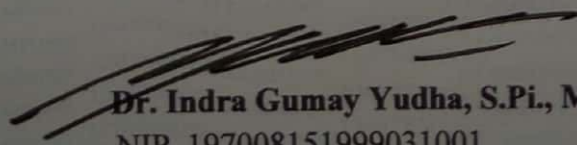
Fakultas : Pertanian



  
**Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.**  
NIP. 198408052009121003

  
**Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si.**  
NIP. 199001282019032018

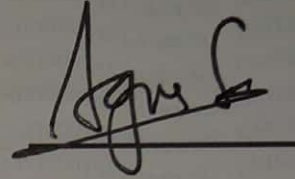
2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan  
Universitas Lampung

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

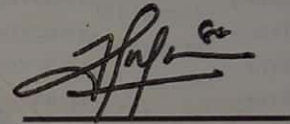
**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

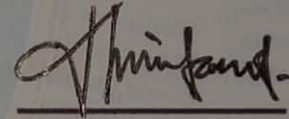
Ketua : **Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.**



Sekretaris : **Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si.**



Penguji  
Bukan Pembimbing : **Limin Santoso, S.Pi., M.Si.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



**Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si**  
NIP. 19611020 198603 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **26 Juni 2023**

## PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Karya tulis/skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik sarjana baik di Universitas Lampung maupun perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan naskah, dengan naskah disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya tulis ini serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di Universitas Lampung.

Bandar Lampung, 12 Juli 2023

Yang membuat pernyataan,



**Bernika Vina Audia**

## RIWAYAT HIDUP



Penulis memiliki nama lengkap Bernika Vina Audia yang dilahirkan pada tanggal 24 Juli 2000 di Liwa, sebagai anak kedua dari pasangan Bapak Rohman dan Ibu Siti Rohima. Penulis mempunyai satu kakak perempuan bernama Dian Oktafiani Mandasari dan satu adik laki-laki bernama Haiqal Arya Wibawa. Penulis menyelesaikan pendidikan formal taman kanak-kanak di TK Nurul Islam pada tahun 2006 dan dilanjutkan dengan pendidikan dasar di SD Negeri 1 Way Mengaku yang lulus pada tahun 2012. Penulis melanjutkan pendidikan di SMPN 1 Liwa dan lulus pada tahun 2015, kemudian melanjutkan pendidikan di SMAN 1 Liwa dan lulus tahun 2018.

Pada tahun 2018 penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang S1 dan terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam organisasi tingkat jurusan, yaitu Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (Himapik), sebagai anggota Bidang Komunikasi dan Informasi periode 2019-2020.

Pada Februari-Maret 2021 penulis melakukan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari di Kelurahan Way Mengaku, Kecamatan Balik Bukit, Lampung Barat, Lampung. Pada Agustus-September 2021 penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung selama 40 hari dengan judul “Pemeriksaan Ektoparasit Penyebab Penyakit pada Ikan Bawal Bintang (*Trachinotus blochii*) di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung”. Pada tahun 2022 penulis melakukan penelitian dengan judul “Resistensi



Bakteri *Vibrio* spp. terhadap Antibiotik Oksitetrasiklin, Eritromisin, dan Ciprofloksasin”.

## **PERSEMBAHAN**

Puji syukur hanya kepada Allah SWT yang telah memberikan limpahan rahmat serta karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.

Dengan kerendahan hati, kupersembahkan skripsi ini sebagai tanda bukti dan kasih cintaku yang tulus dan mendalam kepada bapak dan mama yang selalu memberikan doa, dukungan, nasihat serta upaya demi tercapainya cita-citaku, terima kasih atas semua cinta yang telah bapak dan mama berikan kepada saya. Kakakku Dian Oktafiani Mandasari dan adikku Haiqal Arya Wibawa yang selalu memberikan semangat dan dukungan.

Keluarga besar Poseidon dan keluarga besar Perikanan dan Kelautan, Universitas Lampung serta almamater tercinta, Universitas Lampung.

## MOTTO

“Cukuplah Allah (menjadi penolong) bagi kami dan Dia sebaik-baiknya pelindung.”

*(QS. Ali Imran : 173)*

“Apabila sesuatu yang kau senangi tidak terjadi, maka senangilah apa yang terjadi.”

*(Ali bin Abi Thalib)*

“Aku telah mencintai diriku sendiri untuk siapa diriku yang sekarang, untuk siapa diriku yang kemarin, dan untuk siapa diriku yang kuharapkan.”

*(Namjoon Kim)*

“Only you have to know how hard you work.”

*(Seokjin Kim)*

## SANWACANA

Puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada kita semua, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Resistensi Bakteri *Vibrio* spp. terhadap Antibiotik Oksitetrasiklin, Eritromisin, dan Ciprofloksasin” sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Universitas Lampung. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si. selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung;
2. Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi, M.Si. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung;
3. Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D. selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Universitas Lampung;
4. Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P. selaku Pembimbing Utama yang telah memberikan dukungan, bimbingan, saran, dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi ini;
5. Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si. selaku Pembimbing Kedua yang telah memberikan dukungan, bimbingan, saran, dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi ini;
6. Limin Santoso, S.Pi., M.Si selaku Penguji Utama yang telah memberikan dukungan, bimbingan, saran, dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi ini;
7. Dosen Jurusan Perikanan dan Kelautan yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat dan pengalaman hidup kepada penulis selama penulis menjadi mahasiswa;
8. Staf administrasi Jurusan Perikanan dan Kelautan yang telah membantu urusan administrasi selama masa perkuliahan;

9. Kedua orang tuaku tersayang, Bapak Rohman dan Mama Siti Rohima, yang selalu memberikan doa, cinta, kasih sayang, kesabaran, dan semua dukungan dalam kehidupan bersama penulis serta dukungan moril maupun materil yang selama ini diberikan kepada penulis;
10. Adikku Haiqal Arya Wibawa dan kakakku Dian Oktafiani Mandasari bersama suami (Henu Akbar Setyawan), serta kedua keponakan Ansara Maisadipta Akbar dan Zunaira Athalia Akbar yang telah memberikan dukungan dan doa;
11. Ade Hardiansyah yang telah memberikan dukungan, arahan, motivasi, kebaikan, dan perhatian selama penyelesaian skripsi ini;
12. Cindi Arina, Agustina, Azizah, Dhea Adinda Rysky, Dwi Ramadhan selaku sahabat yang sangat membantu dalam kegiatan penelitian;
13. Sopiah Fitri selaku sahabat yang telah memberikan semangat dan dukungan selama penyelesaian skripsi ini;
14. Keluarga besar Perikanan dan Kelautan 2018 dan Poseidon 2018 yang telah memberikan kenangan selama masa perkuliahan;
15. Semua pihak secara langsung maupun tidak langsung yang telah banyak membantu selama pembuatan skripsi.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk perbaikan skripsi ini. Semoga skripsi ini bermanfaat untuk semua pihak.

Bandar Lampung, Juli 2023

Penulis

**Bernika Vina Audia**

## DAFTAR ISI

<b>DAFTAR ISI</b> .....	i
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	iii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	iv
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
1.4 Kerangka Pikir.....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1 Bakteri <i>Vibrio</i> .....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri <i>Vibrio</i> .....	5
2.1.2 Infeksi Bakteri <i>Vibrio</i> .....	6
2.2 Antibiotik.....	6
2.2.1 Jenis Antibiotik.....	6
2.2.2 Mekanisme Antibiotik terhadap Bakteri.....	7
2.2.3 Jenis Antibiotik yang Diperbolehkan Penggunaannya.....	9
2.3 Resistensi Bakteri .....	10
2.3.1 Definisi Resistensi .....	10
2.3.2 Mekanisme Resistensi .....	10
2.3.3 Kasus Resistensi Bakteri .....	12
<b>III. METODE PENELITIAN</b> .....	13
3.1 Waktu dan Tempat.....	13
3.2 Alat dan Bahan .....	13
3.2.1 Alat .....	13
3.2.2 Bahan .....	14
3.3 Rancangan Penelitian .....	14
3.4 Prosedur Penelitian .....	15
3.4.1 Sterilisasi dan Persiapan Media.....	15
3.4.1.1 Sterilisasi Alat dan Bahan .....	15
3.4.1.2 Persiapan Media .....	15
3.4.2 Persiapan Bakteri Uji.....	16
3.4.2.1 Pembuatan Isolat Bakteri <i>Vibrio</i> .....	15
3.4.2.2 Pembuatan Larutan Standar McFarland 0,5.....	15
3.4.2.3 Uji Zona Hambat.....	15
3.4.2.4 Uji MIC dan MBC .....	15

3.4.2.5 Uji Resistensi Bakteri <i>Vibrio</i> terhadap Antibiotik .....	15
3.5 Analisis Data.....	19
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>20</b>
4.1 Hasil.....	20
4.1.1 Uji Zona Hambat .....	21
4.1.2 Uji MIC dan MBC.....	21
4.1.3 Total Kepadatan Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	21
4.1.4 Total Kepadatan Bakteri <i>Vibrio</i> sp. ....	22
4.2 Pembahasan .....	23
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>28</b>
5.1 Simpulan.....	28
5.2 Saran .....	28
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>30</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>35</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Mekanisme kerja antibiotik.....	8
2. Contoh kasus resistensi bakteri .....	12
3. Alat yang digunakan dalam penelitian.....	13
4. Bahan yang digunakan dalam penelitian.....	14
5. Konsentrasi dan jumlah kepadatan standar McFarland .....	17
6. Antibiotik yang digunakan dalam penelitian .....	19
7. Hasil uji zona hambat.....	20
8. Total kepadatan bakteri standar McFarland.....	37
9. Hasil kepadatan bakteri uji.....	37



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir penelitian.....	4
2. Bakteri <i>Vibrio</i> sp. ....	5
3. Mekanisme resistensi bakteri terhadap antibiotik.....	12
4. Alur rancangan penelitian .....	15
5. Uji zona hambat .....	20
6. Uji MIC dan MBC .....	21
7. Total kepadatan bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	22
8. Total kepadatan bakteri <i>Vibrio</i> sp. ....	23
9. Pembuatan media dan kultur bakteri.....	38
10. Uji antibiotik .....	38
11. Proses pengambilan sampel .....	39

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil kepadatan bakteri standar McFarland .....	36
2. Hasil kepadatan bakteri uji.....	36
3. Dokumentasi penelitian.....	37

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang menjadikan udang sebagai salah satu komoditas utama ekspor. Salah satu kendala dalam kegiatan budi daya udang adalah serangan penyakit yang dapat menimbulkan dampak terhadap penurunan hasil produksi budi daya udang. Serangan bakteri cukup membahayakan dan lebih dominan dibandingkan dengan penyakit yang disebabkan oleh virus, parasit, dan jamur. Salah satu bakteri yang menjadi penyebab penyakit pada kegiatan budi daya perikanan yaitu bakteri *Vibrio*. Bakteri *Vibrio* menyerang pada saat udang dalam keadaan stres dan lemah, sehingga bakteri *Vibrio* termasuk ke dalam bakteri patogen oportunistik.

Penyakit yang disebabkan oleh jenis bakteri *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio fischeri* dinamakan penyakit vibriosis. Vibriosis merupakan penyakit yang dapat menyebabkan kematian pada kegiatan budi daya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) (Sukenda dkk., 2005). Serangan vibriosis dapat menimbulkan kematian mencapai 100% pada stadia larva atau juvenil dalam kurun waktu 1-2 hari (KKP, 2012). Bakteri *Vibrio* sp. pernah dilaporkan menyerang pada lobster (Raissy dkk., 2011), udang windu (Tran dkk., 2013), nila dan belanak (Abdellrazaq, 2014), kerapu macan (Hastari dkk., 2014), lele (Indrarini dkk., 2014), dan kepiting bakau (Feriandika dkk., 2014).

Penyakit vibriosis menimbulkan gejala klinis terhadap organisme yang terjangkit, salah satunya yaitu pada udang. Menurut Lavilla-Pitogo (2000), gejala klinis pada udang yang terserang vibriosis terdapat pada hepatopankreas. Adanya bercak

merah pada pleopod, uropod dan abdomen, insang merah kecoklatan, dan udang berenang lambat (Ramesh dkk., 2014). Penularan vibriosis dapat melalui air atau kontak langsung antar udang dalam satu tambak terutama pada tambak dengan kepadatan tinggi. Menurut Prayitno (2005) resiko penyebaran penyakit vibriosis cukup tinggi, sehingga seluruh udang yang telah terinfeksi terpaksa dibuang atau dimusnahkan.

Bakteri *Vibrio* bersifat zoonosis yaitu dapat menularkan penyakit dari hewan ke manusia ataupun sebaliknya. Hal tersebut dapat terjadi melalui makanan laut mentah atau setengah matang dan tidak diolah dengan baik sehingga dapat menyebabkan septikemia diikuti dengan nekrosis pada bagian tubuh bahkan beberapa kasus menimbulkan kematian pada manusia (Huang dkk., 2008). Beberapa strain *Vibrio* antara lain *V. vulnificus* menyebabkan kematian pada manusia hingga 50% (Hackbusch dkk., 2020), *V. cholera* menyebabkan penyakit diare melalui air dan makanan yang terkontaminasi, *V. mimicus* dapat menyebabkan gastroenteritis dan diare pada manusia, dan *V. harveyi* dapat menginfeksi luka pada manusia melalui kontak dengan air laut (Montánchez, 2020).

Berdasarkan kasus penyebaran penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* spp., maka diperlukan upaya pencegahan terhadap infeksi bakteri tersebut. Salah satu cara pencegahan yang dapat dilakukan adalah dengan pemberian antibiotik. Antibiotik adalah senyawa yang dihasilkan oleh organisme seperti bakteri dan jamur. Senyawa ini mempunyai kemampuan untuk membunuh bakteri (bakterisidal) atau menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik). Antibiotik dapat digunakan untuk tindakan pencegahan dan pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* (Rodrigues dkk., 2011). Namun, penggunaan antibiotik yang berlebihan pada budi daya udang dapat menimbulkan sifat kebal sel bakteri terhadap antibiotik. Sifat ini dikenal dengan istilah resistensi sel bakteri (Ganiswara, 2009).

Galur bakteri yang resisten terhadap beberapa antibiotik menyebabkan pengobatan menggunakan antibiotik tidak lagi efektif. Akibat penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dengan prosedur, antibiotik tidak dapat digunakan untuk membunuh

atau menghambat bakteri penyebab infeksi penyakit. Hal tersebut menyebabkan semakin sulitnya pencegahan dan pengobatan terhadap suatu penyakit yang ditimbulkan oleh bakteri. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai sifat resistensi bakteri *Vibrio* terhadap beberapa antibiotik yang diharapkan menjadi solusi untuk penanganan penyakit yang disebabkan oleh bakteri tersebut.

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis dan mengkaji sifat resistensi bakteri *Vibrio* spp. terhadap antibiotik oksitetrasiklin, eritromisin, dan ciprofloksasin.

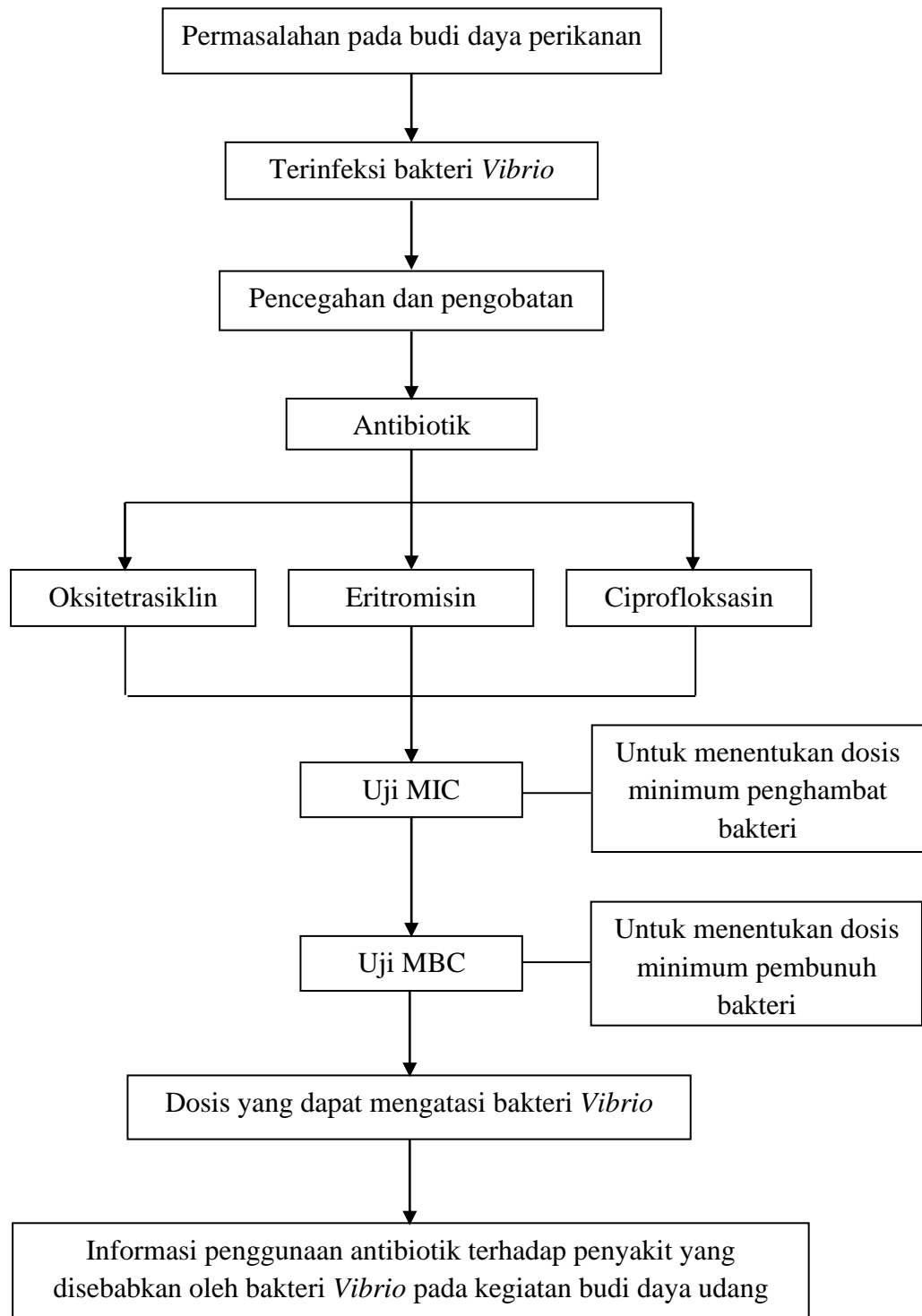
## **1.3 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang penggunaan antibiotik terhadap pencegahan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* dalam kegiatan budi daya perikanan.

## **1.4 Kerangka Pikir**

Kasus penyebaran penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* perlu dilakukan upaya dalam pengobatan terhadap infeksi bakteri tersebut. Salah satu cara pengobatan yang dapat dilakukan adalah dengan pemberian antibiotik. Perlu dilakukan percobaan terhadap beberapa jenis antibiotik untuk mengetahui jenis antibiotik yang tepat dalam menangani bakteri *Vibrio*. Jenis antibiotik yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari oksitetrasiklin, eritromisin, dan ciprofloksasin. Ketiga jenis antibiotik tersebut termasuk kategori antibiotik yang aman digunakan berdasarkan Kepmen nomor 52 tahun 2014. Selama pengujian berlangsung, dilakukan 2 uji untuk mengetahui dosis penggunaan antibiotik. Kedua uji tersebut antaralain uji MIC (*minimum inhibitory concentration*) untuk menentukan dosis minimum dan uji MBC (*minimum bactericidal concentration*) untuk menentukan dosis maksimum antibiotik. Hasil dari kedua uji tersebut dapat menjadi informasi

mengenai penggunaan antibiotik dengan dosis yang tepat untuk pencegahan penyakit oleh bakteri *Vibrio*. Kerangka pikir disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Bakteri *Vibrio*

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri *Vibrio*

Klasifikasi bakteri *Vibrio* sp. menurut Marlina (2004) antarlain sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria  
Filum : Proteobacteria  
Class : Gammaproteobacteria  
Order : Vibrionales  
Family : Vibrionaceae  
Genus : *Vibrio*  
Species : *Vibrio* sp.



Gambar 2. Bakteri *Vibrio* sp.  
Sumber: Maria (2008)

Bakteri *Vibrio* merupakan bakteri gram negatif bersifat patogen menjadi penyebab penyakit yang sangat akut dan ganas (Firdaus, 2013). Bakteri *Vibrio* bersifat an-aerobik fakultatif, yaitu dapat hidup dengan oksigen ataupun tanpa adanya oksigen. Menurut Richie (2005) bakteri *Vibrio* memiliki diameter 3-5 mm, koloni biru kehijauan, pusat koloni berwarna hijau tua, memiliki banyak flagella. Menurut

Mudoh dkk. (2014) *Vibrio* dapat tumbuh pada rentang pH yang luas (4,8 – 11,0) dan kisaran optimal adalah pH 7,6 – 8,6. Mewengkang (2010) menyatakan bahwa suhu pertumbuhan *Vibrio* sp. berkisar antara 5 – 44 °C. Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu 30°C dan salinitas antara 20-30 ppt.

### 2.1.2 Infeksi Bakteri *Vibrio*

Penyakit vibriosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri dari genus *Vibrio* sp. Sebagian besar bakteri *Vibrio* bersifat patogen oportunistik yang menimbulkan penyakit apabila ikan mengalami luka fisik, luka akibat parasit dan stres (Nitimulyo dkk., 2005). Infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* menimbulkan beberapa penyakit pada kegiatan budi daya udang. Beberapa contoh penyakit tersebut yaitu AHPND (*acute hepatopancreatic necrosis disease*) atau EMS (*early mortality syndrome*) dan penyakit kunang-kunang (*luminescent vibriosis*). Menurut Hamzah, dkk. (2021) penyakit AHPND atau EMS disebabkan oleh strain bakteri *V. parahaemolyticus*, sedangkan penyakit kunang-kunang disebabkan oleh strain bakteri *V. harveyi* (Sarida dkk., 2010).

AHPND menyerang dalam 30 hari pertama setelah udang ditebar dan dapat menyebabkan kematian massal melebihi 70%. Udang yang terjangkit penyakit AHPND menunjukkan gejala seperti pergerakan lemah, pertumbuhan udang menjadi lambat, pengosongan lambung dan usus, hepatopankreas berhenti berkembang serta berwarna putih pucat (Leon dkk., 2016). Adapun infeksi yang ditimbulkan oleh bakteri *V. harveyi* awalnya masuk melalui mulut yang kemudian membentuk plak dan menyebar ke alat gerak, kemudian terjadi kehilangan fungsi dan degradasi alat gerak. Bakteri ini menginfeksi dari fase telur sampai indukan dan dapat menyebabkan kematian organisme budi daya sampai 100% (Ortega & Diaz 2014).



## 2.2 Antibiotik

### 2.2.1 Jenis Antibiotik

Antibiotik didefinisikan sebagai zat atau senyawa yang memiliki kemampuan untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme pembawa penyakit. Dalam penanganannya, antibiotik yang digunakan harus aman dan tidak beracun untuk inang sehingga memungkinkan penggunaannya sebagai agen kemo-terapi untuk pengobatan penyakit infeksi bakteri. Menurut Romero, dkk. (2012) antimikroba atau antibiotik yang digunakan dalam akuakultur dapat dikategorikan sebagai:

1. Profilaksis yaitu pemberian obat untuk mencegah penyakit sebelum terjadi.
2. Terapeutik yaitu pemberian obat untuk mengobati organisme yang sakit.
3. Metafilaktik yaitu penggunaan pengobatan massal atau dalam skala besar untuk meminimalkan wabah penyakit.

Adapun antibiotik yang paling umum digunakan dalam kegiatan akuakultur yaitu golongan *aminoglikosida* (*streptomisin*), *amfenikol* (*florfenicol*),  $\beta$ -*laktam* (*amoksisilin*, *ampisilin*), *diaminopirimidin* (*ormethoprim*), *makrolida* (*eritromisin*), *kui-nolon* (*asam oxolinic*, *flumequine*, *sarafloxacin*, *enrofloxacin*, *ciprofloxacin*), *sulfonamida* (*sulfadimetoksin*), dan *tetrasiklin* (*tetrasiklin*, *oksitetrasiklin*)

### 2.2.2 Mekanisme Antibiotik terhadap Bakteri

Antibiotik bekerja melawan bakteri melalui mekanisme yang berbeda-beda. Secara umum, antibiotik memiliki dua mekanisme yaitu efek bakterisidal dimana antibiotik umumnya membunuh bakteri dengan mengganggu pembentukan dinding sel bakteri atau isi selnya. Contohnya adalah penisilin, fluoroquinolones, dan metronidazole. Kemudian, efek bakteriostatik yaitu antibiotik menghentikan bakteri untuk berkembang biak dengan mengganggu produksi protein bakteri, replikasi DNA, atau aspek lain dari metabolisme sel bakteri. Contohnya adalah tetrasiklin, sulfonamida, kloramfenikol, dan makrolida (Romero dkk., 2012).

Antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel bakteri yaitu  $\beta$ -laktam dan glikopeptida.  $\beta$ -laktam memblokir sintesis dinding sel bakteri dengan mengganggu enzim yang diperlukan untuk sintesis lapisan peptidoglikan. Antibiotik yang bekerja dengan menghambat sintesis protein antara lain makrolida, aminoglikosida, tetrasiklin, dan kloramfenikol. Antibiotik ini memanfaatkan perbedaan struktural antara ribosom bakteri dan eukariotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri secara selektif. Makrolida, aminoglikosida, dan tetrasiklin berikatan dengan subunit 30S ribosom, sedangkan kloramfenikol berikatan dengan subunit 50S.

Tabel 1. Mekanisme kerja antibiotik

No.	Mekanisme kerja antibiotik	Jenis antibiotik	
1.	Inhibitor sintesis dinding sel	Menghambat enzim biosintetik	Fosfomisin Sikloserin
		Berikatan dengan molekul pembawa	Basitrasin
		Berikatan dengan substrat dinding sel	Vankomisin
		Menghambat polimerisasi dan perlekatan peptidoglikan pada dinding sel	Penisilin Sefalosporin Karbapenem Monobaktam
2.	Inhibitor membran sitoplasma	Merusak membran sitoplasma Membuat pori pada membrane	Tirosidin Polimiksin Gramisidin
3.	Inhibitor sintesis asam nukleat	Inhibitor replikasi DNA	Kuinolon Nitroimidazol
		Inhibitor RNA polimerase	Rifampin
4.	Inhibitor fungsi ribosom	Inhibitor unit 30S	Aminoglikosida Tetrasiklin
		Inhibitor unit 50S	Kloramfenikol Makrolid Asam fusidat

Tabel 1. Mekanisme kerja antibiotik (lanjutan)

No.	Mekanisme kerja antibiotik	Jenis antibiotik
5.	Inhibitor metabolisme folat	Inhibitor asam pteroaat sintetase Inhibitor dihidrofolat reduktase
		Sulfonamid Trimetoprim

Sumber: Romero dkk., (2012)

Sistem kerja antibiotik jenis fluoroquinolones yaitu mengerahkan efek antibakterinya dengan mengganggu sintesis DNA dan menyebabkan kerusakan DNA untai ganda yang mematikan selama replikasi DNA. Contohnya aksi bakterisidal ciprofloksasin dihasilkan dari penghambatan topoisomerase II (DNA gyrase) dan topoisomerase IV (keduanya topoisomerase Tipe II), yang diperlukan untuk replikasi, transkripsi, perbaikan, dan rekombinasi DNA bakteri. Sulfonamid dan trimetoprim memblokir jalur sintesis asam folat, yang pada akhirnya menghambat sintesis DNA.

### 2.2.3 Jenis Antibiotik yang Diperbolehkan Penggunaannya

Penggunaan obat atau antibiotik dalam penanganan suatu penyakit terhadap organisme harus mendapat persetujuan terlebih dahulu secara legal dalam akuakultur oleh lembaga pemerintah yang bertanggung jawab atas kedokteran hewan. Di Indonesia, perizinan penggunaan antibiotik untuk akuakultur telah ditetapkan berdasarkan Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia Nomor 52/KEPMEN-KP/2014 tentang Klasifikasi Obat Ikan. Terdapat tiga golongan antibiotik, yaitu golongan kuinolon (enrofloksasin), golongan tetrasiklin (klor-tetrasiklin, oksitetrasiklin, dan tetrasiklin), serta golongan makrolida (eritromisin) yang diperbolehkan penggunaannya dalam penanganan penyakit pada kegiatan budi daya perikanan (KKP, 2012).

## 2.3 Resistensi Bakteri

### 2.3.1 Definisi Resistensi

Penyebab dari resistensi antibiotik yaitu karena penggunaan antibiotik yang berlebihan atau tidak sesuai dengan dosis tertentu (Romero dkk., 2012). Akibatnya, penggunaan antibiotik untuk mengatasi penyakit yang menginfeksi pada suatu organisme menjadi tidak efektif. Menurut Kusmawarti dkk. (2012) peluang kematian pada suatu organisme menjadi meningkat akibat salahnya penanganan yang disebabkan oleh resistensi antibiotik. Resistensi bakteri dapat diklasifikasikan berdasarkan sensitivitasnya terhadap agen antibiotik.

Kategori tersebut dibuat untuk membuat definisi terstandar terhadap istilah resistensi yang mungkin diartikan berbeda di tiap negara untuk bakteri-bakteri patogen. Berikut kategori bakteri resisten menurut Magiorakos dkk. (2012) adalah sebagai berikut:

1. *Multidrug-resistant* (MDR) yaitu resistensi bakteri yang didefinisikan sebagai ketidaksensitifan bakteri terhadap paling tidak satu golongan antibiotik dari tiga atau lebih kategori antibiotik.
2. *Extensively drug-resistant* (XDR) yaitu resistensi bakteri yang didefinisikan sebagai ketidaksensitifan bakteri terhadap paling tidak satu golongan antibiotik dari semua kategori antibiotik, kecuali satu atau dua kategori yang masih sensitif.
3. *Pan drug-resistant* (PDR) yaitu resistensi bakteri yang didefinisikan sebagai ketidaksensitifan bakteri terhadap semua golongan antibiotik dari semua kategori.

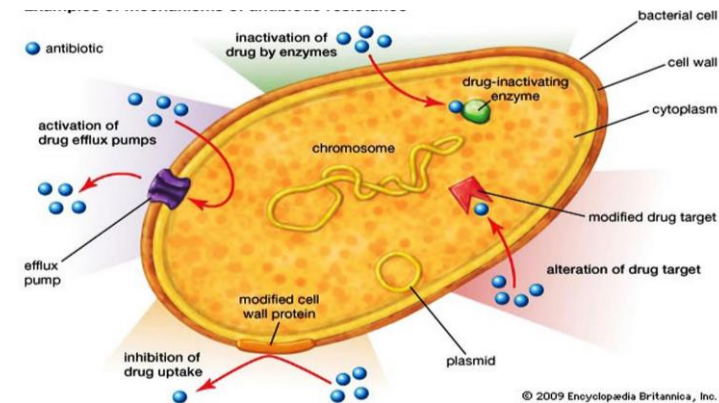
### 2.3.2 Mekanisme Resistensi

Mekanisme terjadinya resistensi bakteri patogen terhadap antibiotik dapat terjadi karena resistensi secara alami (*innate*) atau didapatkan (*acquired*). Beberapa bakteri memiliki resistensi alami (*innate*) terhadap lebih dari satu kelas agen antibiotik. Akuisisi gen resisten dari bakteri resisten ke bakteri sensitif dapat terjadi melalui konjugasi, transformasi, atau transduksi transposon dari bakteri resisten ke plasmid sel inang. Gen resisten yang telah diakuisisi memungkinkan bakteri untuk

menghasilkan suatu enzim yang dapat merusak agen antibakteri, mengekspresikan pompa efluks yang mampu mencegah agen antibiotik mencapai situs target intraselular, memodifikasi situs target obat, atau menghasilkan alternatif jalur metabolisme, sehingga mampu melewati fuse yang menjadi target obat. Resistensi terhadap berbagai kelas agen antibiotik dapat terjadi melalui pertukaran genetik tersebut (Tenover, 2006).

Menurut McManus (1997) terdapat dua istilah pada resistensi bakteri berdasarkan mekanisme perubahan genetiknya yaitu evolusi vertikal dan evolusi horizontal. Evolusi vertikal terjadi akibat adanya mutasi kromosom dan proses seleksi dimana hal tersebut terjadi saat organisme diterapi menggunakan agen antibiotik. Bakteri yang sensitif terhadap antibiotik tersebut akan mati, sedangkan yang resisten akan bertahan kemudian memperbanyak diri sehingga meningkatkan populasi bakteri resisten. Awal mula terjadinya resistensi pada evolusi vertikal diduga karena adanya mutasi spontan.

Evolusi horizontal terjadi akibat adanya pertukaran material genetik dari organisme yang telah resisten. Organisme resisten tersebut dapat berasal dari spesies yang sama maupun dari spesies atau genus yang berlainan. Pertukaran material genetik terjadi melalui proses konjugasi, transduksi, dan transformasi. Konjugasi material genetik bakteri resisten terjadi pada bakteri gram negatif melalui 'pilus', yaitu struktur perpanjangan suatu protein yang menghubungkan dua organisme. Transduksi terjadi melalui material genetik yang ditransfer oleh bakteriofag (virus yang menyerang bakteri). Adapun transformasi terjadi melalui segmen DNA dari bakteri resisten yang ada di lingkungan bakteri non resisten yang ada saat lisis bakteri resisten. Hal tersebut dapat mengakibatkan individu organisme bakteri nonresisten berubah menjadi resisten.



Gambar 3. Mekanisme resistensi bakteri terhadap antibiotik  
Sumber: Poole (2002)

### 2.3.3 Kasus Resistensi Bakteri

Penggunaan senyawa antibiotik secara luas dan tidak terkontrol dapat menghasilkan efek residu pada budi daya perikanan dan berpengaruh terhadap kesehatan manusia (European Federation of Animal Health, 1998; WHO, 2001). Pada tahun 2009 terjadi penolakan komoditas ekspor udang Indonesia oleh RASFF (*rapid alert system for food and feed*) Uni Eropa yang disebabkan oleh keberadaan antibiotik *nitrofurantoin*, *kloramfenikol*, dan *malacite green* dan *Vibrio parahaemolyticus* (Sunorita & Tjarsono, 2014). Beberapa contoh kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik diantaranya:

Tabel 2. Contoh kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik pada budi daya perikanan.

No.	Bakteri	Jenis antibiotik	Referensi
1	<i>Vibrio</i> sp.	Eritromisin, enrofloksasin, oksitetrasiklin.	Apriliani dkk. (2016)
2	<i>V. parahaemolyticus</i>	Ampisilin dan oksitetrasiklin	Yano dkk. (2014)
3	<i>Vibrio</i> sp.	Ampisilin, siprofloksacin, kloramfenikol, nitrofurantoin, gentamisin, oksitetrasiklin, tetrasiklin, streptomisin.	Rocha dkk. (2016)
4	<i>V. parahaemolyticus</i>	Streptomisin, eritromisin, amoksisilin-asam klavunalat, nitrofurantoin, asam nalidiksate.	Kusmarwati dkk. (2017)

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2022 – Januari 2023 selama 30 hari di Laboratorium Budidaya Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

#### 3.2 Alat dan Bahan

##### 3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini diuraikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Alat yang digunakan dalam penelitian

No	Nama Alat	Fungsi
1	Jarum ose	Alat untuk memindahkan/mengambil biakan bakteri.
2	Cawan petri	Wadah pengkultur bakteri.
3	Erlenmeyer	Wadah pembuatan media agar.
4	Tabung reaksi	Wadah pengenceran.
5	Rak tabung reaksi	Tempat meletakkan tabung reaksi.
6	Bunsen	Alat pensteril dalam kultur bakteri.
7	Kertas cakram	Menguji aktivitas mikroba antibiotik terhadap bakteri.
8	Batang pengaduk	Alat pengaduk bahan media agar.
9	Mikropipet	Alat untuk mengambil sampel bakteri.
10	Laminar	Tempat mengkultur sampel bakteri.
11	Korek api	Menghidupkan api pada bunsen.
12	Spatula	Mengambil bahan media agar.
13	<i>Aluminium foil</i>	Wadah bahan-bahan pembuatan media agar.
14	Timbangan digital	Menimbang bahan pembuatan media agar.
15	Plastik <i>wrap</i>	Pembungkus tabung reaksi.
16	Inkubator	Alat menginkubasi bakteri.

Tabel 3. Alat yang digunakan dalam penelitian (lanjutan)

No	Nama Alat	Fungsi
17	<i>Magnetic stirrer</i>	Alat untuk mengaduk media.
18	Autoklaf	Mensterilkan alat dan bahan yang akan digunakan.
19	Label	Penanda sampel.
20	<i>Hot plate</i>	Alat memanaskan media.
21	Pipet tetes	Alat untuk mengambil sampel bakteri dalam media cair.
23	<i>Vortex</i>	Alat pencampur larutan.
24	Spektrofotometer	Alat penghitung nilai absorbansi.

### 3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian diuraikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Bahan yang digunakan dalam penelitian

No	Bahan	Keterangan
1	Isolat <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Bakteri uji.
2	Isolat <i>Vibrio</i> sp.	Bakteri uji.
3	Alkohol 70%	Sebagai antiseptik.
4	Oksitetrasiklin	Antibiotik.
5	Eritromisin	Antibiotik.
6	Ciprofloksasin	Antibiotik.
7	Akuades	Pelarut bahan media agar.
8	Spiritus	Cairan bahan bakar bunsen.
9	NA ( <i>nutrient agar</i> )	Media tumbuh bakteri.
10	NB ( <i>nutrient broth</i> )	Media tumbuh bakteri.

### 3.3 Rancangan Penelitian

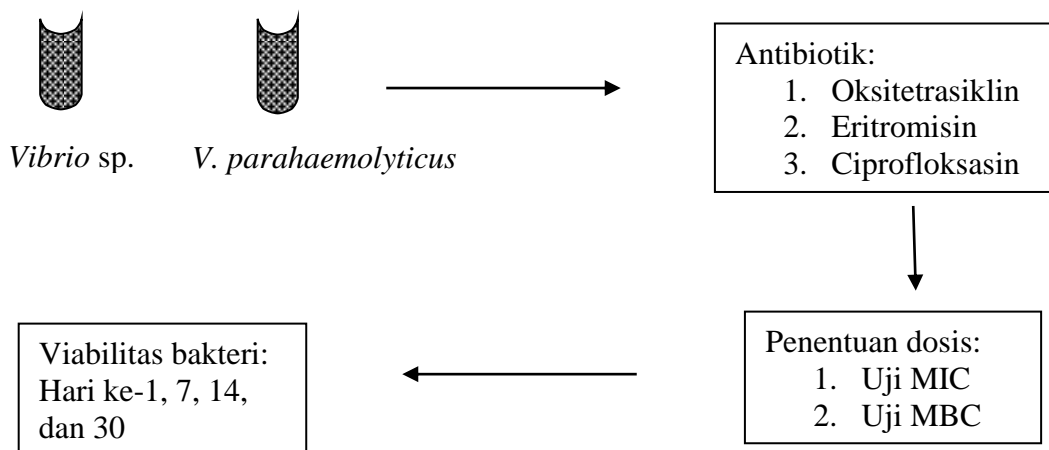
Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium dengan 3 perlakuan antibiotik dan 1 perlakuan kontrol. Secara rinci perlakuan yang digunakan antara lain:

- Kontrol (K) : Tanpa penambahan antibiotik.  
 P1 : Penambahan oksitetrasiklin 50 ppm.  
 P2 : Penambahan eritromisin 50 ppm.  
 P3 : Penambahan ciprofloksasin 50 ppm.

Uji MIC dan MBC dilakukan untuk menentukan dosis antibiotik yang digunakan. Pengamatan dilakukan sebanyak 4 kali, yaitu pada hari ke-1, ke-7, ke-14, dan hari



ke-30 dengan 2 kali ulangan. Pengamatan menggunakan spektrofotometer kemudian dicatat nilai absorbansinya. Alur rancangan dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Alur rancangan penelitian

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Sterilisasi dan Persiapan Media

##### 3.4.1.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini harus dalam keadaan steril dari berbagai jenis mikroorganisme baik jamur maupun bakteri. Sebelum penggunaannya, alat terlebih dahulu cuci hingga bersih menggunakan sabun dan air yang mengalir. Selanjutnya, dikeringanginkan yang kemudian alat dibungkus menggunakan plastik tahan panas. Tahap selanjutnya, alat disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit.

##### 3.4.1.2 Persiapan Media

Pada penelitian ini media yang digunakan media NA (*nutrient agar*) sebagai media rekultur bakteri dan media NB (*nutrient broth*) sebagai media uji terhadap antibiotik. Hal pertama yang dilakukan untuk pembuatan media NA yaitu media NA ditimbang sebanyak 2,8 g, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan

dilarutkan dengan akuades sebanyak 100 mL. Selanjutnya erlenmeyer ditutup menggunakan *aluminium foil*, dipanaskan di atas *hot plate* hingga mendidih dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Kemudian media disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121°C. Media NB (*nutrient broth*) ditimbang sebanyak 8,4 g dan dilarutkan menggunakan akuades sebanyak 600 mL. Kemudian media dipanaskan di atas *hot plate* dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* yang kemudian disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

### **3.4.2 Persiapan Bakteri Uji**

#### **3.4.2.1 Pembuatan Isolat Bakteri *Vibrio***

Isolat bakteri yang digunakan yaitu bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang berasal dari Balai Veteriner Lampung dan tersedia di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Perikanan dan Kelautan yang direkultur untuk mendapatkan kultur bakteri baru dan bakteri *Vibrio* sp. yang berasal dari sampel air laut dan air tambak di Pantai Sebalang, Lampung Selatan. Hal ini dilakukan dengan cara melakukan inokulasi bakteri yang telah disediakan ke dalam NA (*nutrient agar*) dan diinkubasi selama 1×24 jam. Biakan bakteri yang sudah berumur 24 jam diambil menggunakan ose steril sebanyak 1 ose, dan kemudian diinokulasikan ke dalam media NB (*nutrient broth*) untuk dilakukan uji resisten. Sampel dihomogenkan menggunakan *vortex* sampai diperoleh kekeruhan yang sesuai dengan standar 0,5 McFarland atau sebanding dengan jumlah bakteri  $10^7$  CFU/mL.

#### **3.4.2.2 Pembuatan Larutan Standar McFarland 0,5**

Standar McFarland merupakan larutan standar baku yang digunakan untuk memperkirakan jumlah bakteri dalam suspensi cair dengan membandingkan kekeruhan suspensi bakteri uji dengan larutan standar McFarland. Standar yang umum digunakan dalam pengujian kepekaan antimikroba dan pengujian kinerja media biakan bakteri adalah standar 0,5 McFarland. Larutan ini dibuat dari campuran larutan kimia barium klorida ( $\text{BaCl}_2$ ) dan asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) yang akan menghasilkan

endapan halus di dasar larutan. Cara pembuatan larutan standar McFarland yaitu pertama disiapkan 11 tabung reaksi pada rak tabung reaksi dan diberi keterangan sesuai dengan skala McFarland. Selanjutnya, setiap tabung diisi dengan larutan BaCl<sub>2</sub> 1% dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% sesuai dengan konsentrasi standar McFarland yang telah ditetapkan. Lalu, larutan di-*vortex* hingga homogen dan tabung reaksi ditutup rapat menggunakan *aluminium foil* agar tidak menguap dan terlindung dari cahaya, kemudian larutan disimpan di suhu ruang. Keakuratan dari larutan standar McFarland dapat dilihat menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 625 nm. Standar 0,5 McFarland memiliki nilai absorbansi 0,08 hingga 1 A. Jumlah konsentrasi dan jumlah kepadatan larutan standar McFarland antara lain:

Tabel 5. Konsentrasi dan jumlah kepadatan standar McFarland

McFarland	Komposisi bahan		Kepadatan bakteri (CFU/mL)
	1% BaCl <sub>2</sub> (mL)	1% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (mL)	
0,5	0,05	9,95	$1,5 \times 10^8$
1,0	0,1	9,9	$3,0 \times 10^8$
2,0	0,2	9,8	$6,0 \times 10^8$
3,0	0,3	9,7	$9,0 \times 10^8$
4,0	0,4	9,6	$1,2 \times 10^9$
5,0	0,5	9,5	$1,5 \times 10^9$
6,0	0,6	9,4	$1,8 \times 10^9$
7,0	0,7	9,3	$2,1 \times 10^9$
8,0	0,8	9,2	$2,4 \times 10^9$
9,0	0,9	9,1	$2,7 \times 10^9$
10,0	1,0	9,0	$3,0 \times 10^9$

Sumber: Dalynn biological (2002).

### 3.4.2.3 Uji Zona Hambat

Uji zona hambat merupakan metode pengukuran zona terang yang berada di zona terluar kertas cakram yang mengandung antibiotik. Hal pertama yang harus dilakukan untuk uji zona hambat yaitu terlebih dahulu bakteri uji diinokulasi ke dalam media NA sebanyak 4 cawan petri dengan masing-masing bakteri menggunakan 2 cawan. Disiapkan kertas cakram yang telah direndam di masing-masing antibiotik

dan akuades selama 15 menit. Cawan petri dibagi menjadi empat bagian menggunakan spidol lalu diberi keterangan sesuai antibiotik yang digunakan dan larutan akuades sebagai kontrol.

Cara mengukur zona hambat adalah dengan mengukur zona terluar dari kertas cakram sampai pada batas terluar zona hambat dengan menggunakan jangka sorong. Semakin besar zona hambat maka semakin besar pula kemampuan antibiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Daerah hambatan pertumbuhan bakteri secara umum mengacu pada standar umum antibiotik dengan kisaran nilai <11 mm tidak peka, 12-13 mm cukup peka dan > 13 mm sangat peka (Chusniati dkk., 2010). Menurut Harti (2015) perhitungan zona hambat yaitu:

$$\frac{(D_v - D_c) + (D_h - D_c)}{2}$$

Keterangan:

$D_v$  : Diameter vertikal

$D_h$  : Diameter horizontal

$D_c$  : Diameter kertas cakram

#### **3.4.2.4 Uji Konsentrasi Penghambatan Minimal (MIC) dan Konsentrasi Bakterisidal Minimal (MBC)**

Uji MIC sebagai antimikroba yang dapat menghambat bakteri sesudah 18 sampai dengan 24 jam setelah masa inkubasi dan uji MBC adalah konsentrasi minimal antibiotik yang dapat membunuh biakan bakteri. Pada kedua uji tersebut disiapkan 30 tabung reaksi dengan masing-masing bakteri memerlukan 15 tabung pertiga antibiotik dengan dosis masing 0 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, dan 100 ppm. Tabung reaksi diisi media cair NB sebanyak 8 mL, kemudian diinokulasikan bakteri dengan kepadatan yang telah ditentukan yaitu 80 µl. Tabung yang telah terisi bakteri, selanjutnya dipapar dengan antibiotik sebanyak 1 mL dan diinkubasi selama 2 hari. Hasil kedua uji dapat dilihat dari tingkat kekeruhan pada tabung. Jika suspensi mendekati jernih, maka hal tersebut menunjukkan nilai MIC. Konsen-

trasi tersebut dapat digunakan dalam uji resistensi antibiotik terhadap bakteri. Dan jika suspensi terlihat paling jernih maka hal tersebut menunjukkan *minimum bactericidal concentration* (MBC) atau konsentrasi minimal yang dapat membunuh bakteri.

### 3.4.2.5 Uji Resistensi Bakteri *Vibrio* terhadap Antibiotik

Uji resistensi yang dilakukan menggunakan dosis antibiotik dari hasil uji MIC yang sudah dilakukan. Dosis tersebut dipaparkan pada bakteri uji *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio* sp. yang sudah diisolasi dalam media NB (*nutrient broth*). Antibiotik beserta dosis yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Antibiotik yang digunakan dalam penelitian

No	Golongan	Antibiotik	Konsentrasi (ppm)
1	Tetrasiklin	Oksitetrasiklin	50
2	Kuilonon	Ciprofloksasin	50
3	Makrolid	Eritromisin	50

Terlebih dahulu disiapkan 60 tabung reaksi untuk masing-masing bakteri disediakan 30 tabung reaksi dengan 2 kali ulangan. Tabung reaksi diisi media cair NB (*nutrient broth*) sebanyak 8 mL, biakan bakteri *Vibrio* yang telah diremajakan diambil dengan mikro pipet sebanyak 80  $\mu$ l. Kemudian antibiotik dengan konsentrasi yang telah ditetapkan dipaparkan sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi berisi biakan bakteri. Selanjutnya, tabung diinkubasi ke dalam inkubator dengan suhu 36°C selama 30 hari. Selama masa inkubasi, sampel bakteri tersebut di-*vortex* 1 kali setiap hari dan diamati menggunakan spektrofotometer saat suspensi bakteri berumur 24 jam, 7 hari, 14 hari, dan 30 hari. Nilai absorbansi dengan panjang gelombang 625 nm dari hasil spektrofotometer dicatat.

### 3.5 Analisis Data

Data penelitian yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan ditabulasi menggunakan Microsoft Excel yang disajikan berupa gambar dan grafik.

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Simpulan

Bakteri *V. parahaemolyticus* dan bakteri *Vibrio* spp. menunjukkan sifat resistensi pada tingkat *extensively drug-resistant* (XDR) pada antibiotik oksitetrasiklin, eritromisin, dan ciprofloksasin pada dosis 50 ppm.

### 5.2 Saran

Saran yang diberikan dari hasil penelitian ini yaitu penggunaan antibiotik oksitetrasiklin, eritromisin, dan ciprofloksasin dianjurkan menggunakan dosis di atas 50 ppm dalam menangani serangan bakteri *Vibrio* dan untuk penelitian selanjutnya, penggunaan dosis antibiotik dapat ditingkatkan dari dosis 50 ppm untuk meminimalisir resistensi bakteri.

## **DAFTAR PUSTAKA**

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdellrazeq, G. S., & Khaliel, S. A. 2014. Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of *Vibriosis* isolated from healthy and diseased aquacultured freshwater fishes. *Global Veterinaria*. 13(3): 397-407.
- Achmad, I., Mugiono, S. P., Tias Arlianti, S. P., & Chotimatul Azmi, S. P. 2011. *Panduan Lengkap Jamur*. Penebar Swadaya Grup. Jakarta. 252 hlm.
- Apriliani, M., & Haditomo, A. H. C. 2016. Keanekaragaman agensia penyebab vibriosis pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dan sensitivitasnya terhadap antibiotik. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 5(1): 98-107.
- Caroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., Mietzner, T., Detrick, B., Mitchell, T. G., McKerrow, J. H., & Sakanari, J. A. 2016. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 27th Edition*. McGraw-Hill. New York. Amerika Serikat. 273 hlm.
- Ceccarelli, D., Hasan, N. A., Hug, A., & Colwell, R. R. 2013. Distribution, and dynamics of epidemic, and pandemic *parahaemolyticus* virulence factors. *Front Cell Infect Microbiological*. 3(97): 1-9.
- Chitanand, M. P., Kadam, T. A., Gyananath, G., Totewad, N. D., & Balhal, D. K. 2010. Multiple antibiotic resistance indexing of coliforms to identify high risk contamination sites in aquatic environment. *Indian Journal of Microbiology*. 50(2): 216-220.
- Chusniati, S., Dodik, H., Sudarno, & Rahayu, K. 2010. *Buku Penuntun Praktikum Mikrobiologi*. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya. 229 hlm.
- Dalynn, B. 2002. *McFarland Standard for In Vitro Use Only*. Dalynn Biologicals. TM50-TM60: 2.
- Felix, F., Nugroho, T. T., Silalahi, S., & Octavia, Y. 2011. Skrining bakteri *Vibrio* sp. asli Indonesia sebagai penyebab penyakit udang berbasis teknik 16S Ribosomal DNA. *Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 3(2): 85-99.



- Feriandika, F. B., & Prayitno, S. B. 2014. Identifikasi agensia penyebab vibriosis pada penggemukan kepiting bakau (*Scylla serrata*) di Pemalang. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3(2): 126-134.
- Firdaus, R. 2013. Antagonisme bakteri *bacillus* sp. dan *pseudomonas* sp. terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* patogen pada udang windu (*Penaeus monodon*). *Jurnal Dimensi*. 2(2): 33-43.
- Ganiswara, S. G. 2009. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5. Bagian Farmakologi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Depok. 112 hlm.
- Golan, D. E., Tashjian, A. H., & Armstrong, E. J. 2011. *Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy*. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia. 720 hlm.
- Gunawan, C., Marquis, C. P., Amal, R., Sotiriou, G. A., Rice, S. A., & Harry, E. J. 2017. Widespread and indiscriminate nanosilver use: genuine potential for microbial resistance. *ACS Nano*. 11(4): 3438-3445.
- Hameed, A.S.S. 1993. A study of the aerobic heterotrophic bacterial flora of hatchery reared eggs, larvae and postlarvae of *penaeus indicus*. *Journal of Aquaculture*. 117(3-4): 195-204.
- Hamzah, H., Herawaty, H., & Hasmawati, H. 2021. Uji daya hambat madu, bawang merah dan jahe terhadap beberapa jenis bakteri *Vibrio* sp. *Siganus*. 2(2): 118-125.
- Harti, S.A., 2015. *Mikrobiologi Kesehatan: Peran Mikrobiologi dalam Bidang Kesehatan*. Penerbit Andi. Yogyakarta. 35 hlm.
- Hastari, I. F., Sarjito, & Prayitno, S. B. 2014. Karakterisasi agensia penyebab vibriosis dan gambaran histologi ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dari karamba jaring apung teluk Hurun Lampung. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3(3): 86-94.
- Hackbusch, S., Wichels, A., Gimenez, L., Döpke, H., & Gerds, G. 2020. Potentially human pathogenic *Vibrio* spp. in a coastal transect: Occurrence and multiple virulence factors. *Science of the Total Environment*. 707(2): 136113.
- Huang, W. S., Zhu, M. H., Chen, S., Wang, Z. X., Liang, Y., Huang, B., & Nie, P. 2017. Molecular cloning and expression analysis of a fish specific interferon regulatory factor in orange spotted grouper, *Epinephelus coioides*. *Fish & Shellfish Immunology*. 60(2): 368-379.
- Indrarini, D., & Prayitno, S. B. 2014. Agensia penyebab vibriosis ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) pada kolam bekas tambak udang. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3(4): 299-307.

- Jannah, N. I. 2018. *Kajian Farmakokinetika Anti Bakteri Oxytetracycline pada Ikan Nila (Oreochromis niloticus)*. [Disertasi]. Universitas Brawijaya. Malang. 116 hlm.
- Kementerian Kelautan & Perikanan. 2012. *Standar Nasional Indonesia (SNI) Budidaya Air Payau dan Laut*. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Jakarta. 179 hlm.
- Kusmarwati, A., Yenni, Y., & Indriati, N. 2017. Resistensi antibiotik pada *Vibrio parahaemolyticus* dari udang vaname asal pantai utara Jawa untuk pasar ekspor. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 12(2): 91- 106.
- Lavilla-Pitogo, C. R., Lio-Po, G. D., Cruz-Lacierda, E. R., Tendencia, E., & de la Peña, L. D. 2000. *Diseases of penaeid shrimps in the Philippines*. Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center.
- Leon, P. L., Gonzalez, A. L., Montes, R. E., Miranda, M. D. C. F., Coronado, J. F. Ruiz, P. A., & Plata. G. D. 2016. Isolation and characterization of infectious *V. parahaemolyticus*, the causative agent of AHPND, from the white-leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Research*. 44(3): 470-479.
- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., & Monnet, D. L. 2012. Multidrug resistant, extensively drug resistant and pandrug resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*. 18(3): 268-281.
- Maria. 2008. Microbiota of *Vibrio* sp. in the hepatopancreas of cultured white pacific shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Revista MVZ Córdoba*. 18(1): 2.
- Marlina. 2004. *Karakteristik Molekuler Bakteri V. parahaemolyticus dari Sampel Air Laut dan Uji Resistensi Antibiotiknya*. [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas. Sumatera Barat. 78 hlm.
- McManus, M. C. 1997. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *American Journal of Health-System Pharmacy*. 54(12): 1420-1433.
- Melo, L. M. R. D., Almeida, D., Hofer, E., Reis, C. M. F. D., Theophilo, G. N. D., Santos, A. F. D. M., & Vieira, R. H. S. D. F. 2011. Antibiotic resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from pondreared *Litopenaeus vannamei* marketed in Natal. Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 42(3): 1463-1469.
- Mewengkang, H. W. 2010. Identifikasi *Vibrio* sp. pada gonad ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis* L). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 6(1): 18-21.

- Montánchez, I., & Kaberdin, V. R. 2020. *Vibrio harveyi*: A brief survey of general characteristics and recent epidemiological traits associated with climate change. *Marine Environmental Research*. 154(1): 104-850.
- Mudoh, M. F., Parveen, S., Schwarz, J., Rippen, T., & Chaudhuri, A. 2014. The effects of storage temperature on the growth of *Vibrio parahaemolyticus* and organoleptic properties in oysters. *Frontiers in Public Health*. 2(45): 1-7.
- Nitimulyo, K. H., Isnansetyo, A., Triyanto, T., Istiqomah, I., & Murdjani, M. 2005. Isolasi, identifikasi dan karakterisasi *Vibrio* spp. patogen penyebab vibriosis pada kerapu di Balai Budidaya Air Payau Situbondo. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*. 7(1): 80-94.
- Poole, K. 2002. Mechanism of bacterial biocide and antibiotic resistance. *Journal of Applied Microbiology*. 92(1): 55-64.
- Prayitno, S. B. 2005. *Peran Budidaya Perairan Khususnya Penanganan Penyakit Ikan dalam Pengelolaan Sumberdaya Perikanan*. Universitas Diponegoro. Semarang. 51 hlm.
- Pérez-Rodríguez, M., Pellerano, R.G., Pezza, L., & Pezza, H.R. 2018. An overview of the main foodstuff sample preparation technologies for tetracycline residue determination. *Talanta*. 182: 1-21.
- Raissy, M., Momtaz, H., Moumeni, M., Ansari, M., & Rahimi, E. 2011. Molecular detection of *Vibrio* spp. in lobster hemolymph. *African Journal of Microbiology Research*. 5(13): 1697-1700.
- Ramesh, K., Natarajan, M., Sridhar, H., & Umamaheswari, S. 2014. Virulence determination among *Vibrio harveyi* hatchery isolates through haemolysis and growth constraint. *Global of Journal Bio-Science and Biotechnology*. 3(1): 109-114.
- Richie, J. P. 2005. *Analisis Bakteri Vibrio pada Udang Windu (Penaeus monodon) Tambak di Bengkalis Propinsi Riau*. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Pekanbaru. 87 hlm.
- Rocha, R., de Sousa, O. V., & dos Fernandes Vieira, R. H. S. 2016. Multidrug-resistant *Vibrio* associated with an estuary affected by shrimp farming in Northeastern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*. 105(1): 337-340.
- Rodriguez-Tudela, J. L., Barchiesi, F., Bille, J., Chryssanthou, E., Cuenca-Estrella, M., Denning, D., & Richardson, M. 2003. Method for the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) by broth dilution of fermentative yeasts. *Clinical Microbiology and Infection*. 9(8): 1-8.

- Romero, J., Feijoó, C. G., & Navarrete, P. 2012. Antibiotics in aquaculture—use, abuse and alternatives. *Health and Environment in Aquaculture*. 159(1): 159-198.
- Rukmana, I. H. R. 2014. *Ikan Nila, Budidaya dan Prospek Agribisnis*. Kanisius. Yogyakarta. 107 hlm.
- Sarida, M., Tarsim, T., & Faizal, I. 2010. Pengaruh ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* secara in vitro. *Jurnal Penelitian Sains*. 13(3): 114-124.
- Sarjito, S., Prayitno, S. B., & Haditomo, A. H. 2013. *Pengantar Parasit dan Penyakit Ikan*. Universitas Diponegoro. Semarang. 171 hlm.
- Singh, B.I. 1986. *Studies on The Bacteria Associated with Penaeus Indicus in a Culture System*. Ph.D. [Tesis]. Cochin University of Science and Technology, Cochin. India. 230 hlm.
- Soelama, H. J. 2015. Uji aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dan *Eucheuma denticullatum* terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyii*. *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*. 3(1): 1-17.
- Sukenda, A.J. Sihombing, F. Novianti, & Widanarni. 2005. Penapisan bakteri probiotik dan peranannya terhadap infeksi buatan *Vibrio harveyi* pada udang vanname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 4(2): 181-187.
- Sunorita, M., & Tjarsono, I. 2014. Kebijakan Hambatan Non Tarif di Pasar Uni Eropa Terhadap Ekspor Komoditas Udang Indonesia. *Jurnal Transnasional*. 6(1): 86-102.
- Suryana, S. 2010. *Metode Penelitian Model Praktis Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif*. Buku Ajar Perkuliahan. Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung. 245 hlm.
- Tenover, F. C. 2006. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *The American Journal of Medicine*. 119(6): 3-10.
- Tran, L., Nunan, L., Redman, R. M., Mohny, L. L., Pantoja, C. R., Fitzsimmons, K., & Lightner, D. V. 2013. Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms*. 105(1): 45-55.
- Yano, M., Fukuoka, S., Yamamoto, S. I., Mizobuchi, R., Yamanouchi, U., Ono, K., & Kitazawa, N. 2014. Multiple functional polymorphisms in a single disease resistance gene in rice enhance durable resistance to blast. *Scientific Reports*. 4(1): 45-50.

Yennie, Y. 2011. *Isolasi dan Identifikasi Vibrio Parahaemolyticus Patogenik Pada Udang Tambak*. [Tesis]. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. 103 hlm.

Yoswaty, D. 2014. Patogenitas bakteri *Vibrio* sp. terhadap udang Windu (*Penaeus monodon*). *Jurnal Sungkai*. 2(1): 23-36.