

**GAMBARAN RESISTANSI *Vibrio parahaemolyticus* (FUJINO *et al.*, 1951)
TERHADAP TIGA JENIS ANTIBIOTIK PADA BUDI DAYA UDANG
VANNAMEI *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) DI PROVINSI BANTEN**

Skripsi

Oleh

**VIDYA AYU SEFTIANA
NPM 2014111020**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

GAMBARAN RESISTANSI *Vibrio parahaemolyticus* (FUJINO *et al.*, 1951) TERHADAP TIGA JENIS ANTIBIOTIK PADA BUDI DAYA UDANG VANNAMEI *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) DI PROVINSI BANTEN

Oleh

VIDYA AYU SEFTIANA

Paparan limbah antibiotik di perairan laut menimbulkan mutasi gen yang menyebabkan bakteri mengalami resistansi terhadap antibiotik. Penggunaan air pada budi daya udang tanpa *treatment* memungkinkan bakteri yang resistan terhadap antibiotik dapat masuk ke lingkungan budi daya berpotensi menyebabkan penyakit pada udang dan sulit ditanggulangi. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari resistansi bakteri *V. parahaemolyticus* terhadap tiga jenis antibiotik pada tambak dan *hatchery* di Provinsi Banten. Metode yang digunakan adalah eksploratif. Sebanyak 120 sampel udang vannamei diambil dari tambak dan *hatchery* udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) di Provinsi Banten. Isolat terduga *V. parahaemolyticus* diidentifikasi dengan uji biokimia, kemudian dikonfirmasi menggunakan PCR konvensional. Sebanyak 21 isolat *V. parahaemolyticus* diuji menggunakan difusi cakram dengan tiga antibiotik. Hasil uji menunjukkan persentase sensitivitas *V. parahaemolyticus* sebesar 100% sensitif terhadap tetrasiklin, 100% sensitif terhadap oksitetrasiklin, dan 19,05% intermediat resistan terhadap enrofloksasin. Nilai *minimum inhibitory concentration* (MIC) isolat intermediat resistan adalah 2 µg/mL. *V. parahaemolyticus* dengan interpretasi intermediat resistan berpotensi untuk menyebarkan gen resistan ke bakteri lain.

Kata kunci: Antibiotik, enrofloksasin, oksitetrasiklin, resistansi, tetrasiklin, *Vibrio parahaemolyticus*.

ABSTRACT

THE DESCRIPTION OF *Vibrio parahaemolyticus* (FUJINO *et al.*, 1951) RESISTANCE TO THREE TYPES OF ANTIBIOTICS IN CULTIVATION OF VANNAMEI SHRIMP *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) IN BANTEN PROVINCE

By

VIDYA AYU SEFTIANA

Exposure to antibiotic waste in marine waters causes gene mutations that caused bacteria to develop resistance to antibiotics. The use of water without treatment in shrimp culture allows bacteria that are resistant to antibiotics to enter the cultivation environment, potentially causing disease in shrimp and being difficult to control. This study aimed to determine the resistance of *V. parahaemolyticus* bacteria to three types of antibiotics in ponds and hatcheries in Banten Province. The method used was exploratory. A total of 120 samples of vannamei shrimp were taken from ponds and hatcheries of vannamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Banten Province. Suspected isolates of *V. parahaemolyticus* were identified using biochemical tests, then confirmed using conventional PCR. A total of 21 *V. parahaemolyticus* isolates were tested using disk diffusion with three antibiotics. The test results showed that the sensitivity percentage of *V. parahaemolyticus* was 100% sensitive to tetracycline, 100% sensitive to oxytetracycline, and 19.05% intermediate resistant to enrofloxacin. The minimum inhibitory concentration (MIC) for resistant intermediate isolates was 2 µg/mL. *V. parahaemolyticus* with the interpretation of intermediate resistance had the potential to spread resistance genes to other bacteria.

Keywords: Antibiotics, enrofloxacin, oxytetracycline, resistance, tetracycline, *Vibrio parahaemolyticus*.

**GAMBARAN RESISTANSI *Vibrio parahaemolyticus* (FUJINO *et al.*, 1951)
TERHADAP TIGA JENIS ANTIBIOTIK PADA BUDI DAYA UDANG
VANNAMEI *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) DI PROVINSI BANTEN**

Skripsi

Oleh

**VIDYA AYU SEFTIANA
NPM 2014111020**

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

Pada

**Jurusan Perikanan dan kelautan
Fakultas Pertanian**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

Judul Skripsi : **GAMBARAN RESISTANSI *Vibrio parahaemolyticus* (FUJINO *et al.*, 1951) TERHADAP TIGA JENIS ANTIBIOTIK PADA BUDI DAYA UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*) (BOONE, 1931) DI PROVINSI BANTEN.**

Nama Mahasiswa : **Vidya Ayu Seftiana**

Nomor Pokok Mahasiswa : **2014111020**

Jurusan/Program Studi : **Perikanan dan Kelautan/Budidaya Perairan**

Fakultas : **Pertanian**



Pembimbing I

Pembimbing II

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

Suherman, S.Si, M.Si.
NIP. 197808272009121001

2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan

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


MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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



Sekretaris : **Suherman, S.Si., M.Si.**



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





2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.
NIP. 196411181989021002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 29 Januari 2024

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Karya tulis yang saya buat berupa skripsi ini adalah asli belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (sarjana/ahli madya), baik di Universitas Lampung maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini murni, gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan tim pembimbing.
3. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi yang sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Bandar Lampung, 4 April 2024



Vidya Ayu Seftiana

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Vidya Ayu Seftiana lahir di Lampung Selatan pada tanggal 18 September 2002. Penulis merupakan anak pertama dari pasangan Bapak Adi Wiranto dan Ibu Hasanah. Jenjang pendidikan formal penulis dimulai dari Taman Kanak-Kanak (TK) Ar-Ridho yang diselesaikan pada tahun 2007, Sekolah Dasar (SD) Negeri Caringin 4 yang diselesaikan pada tahun 2014, Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 2 Labuan yang diselesaikan pada tahun 2017, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 3 Pandeglang yang diselesaikan pada tahun 2020. Penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang sarjana (S1) di Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2020.

Selama menjadi mahasiswa penulis aktif di organisasi Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan Universitas Lampung (Himapik) sebagai anggota Bidang kewirausahaan. Penulis telah melaksanakan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kampung Rumbih, Kecamatan Pakuan Ratu, Kabupaten Way Kanan selama 40 hari, yaitu dari Januari sampai dengan Februari 2023. Penulis mengikuti program magang dan riset Merdeka Belajar Kampus Merdeka di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan Serang, Banten dari Februari sampai dengan Desember 2023. Penulis menyelesaikan tugas akhir (skripsi) pada tahun 2024 dengan judul “Gambaran Resistansi *Vibrio parahaemolyticus* (Fujino *et al.*, 1951) terhadap Tiga Jenis Antibiotik pada Budi Daya Udang *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) di Provinsi Banten”.

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

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

Saya persembahkan karya saya ini kepada kedua orang tua saya, Bapak Adi Wiranto dan Ibu Hasanah, yang telah memberikan dukungan, doa yang tak pernah putus, dan kasih sayang sehingga saya berada pada tahap ini.

Adik saya tercinta Muhammad Fatih Maulana.

Serta

Almamater tercinta, Universitas Lampung.

MOTO

“Dan Dialah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daging yang segar (ikan) darinya, dan (dari lautan itu) kamu mengeluarkan perhiasan yang kamu pakai. Kamu (juga) melihat perahu berlayar padanya, dan agar kamu mencari sebagian karunia-Nya, dan agar kamu bersyukur”

(QS. An-Nahl : 4).

“Jika sekelilingmu terasa gelap, coba lihat sekali lagi, barangkali kamu adalah cahayanya”

(Munazir Alaydrus).

“Tetap ilmu padi dan menyala”

(Pasming Based).

SANWACANA

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia yang diberikan, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Gambaran Resistansi *Vibrio parahaemolyticus* (Fujino *et al.*, 1951) terhadap Tiga Jenis Antibiotik pada Budi Daya Udang Vannamei *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) di Provinsi Banten” ini untuk memenuhi salah satu persyaratan mencapai gelar Sarjana Perikanan Universitas Lampung.

Selama penulisan skripsi ini, penulis banyak menerima masukan, bantuan, dukungan, serta saran sehingga dapat menyelesaikan skripsi. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P., 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, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
4. Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si. selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan motivasi dan bimbingan kepada penulis selama di perkuliahan.
5. Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P., selaku dosen pembimbing utama yang telah membimbing penulis dengan sabar, selalu memberikan saran, motivasi, dan masukan dalam menyelesaikan skripsi.
6. Suherman, S.Si., M.Si., selaku dosen pembimbing kedua yang telah membimbing penulis dengan sabar, selalu memberikan saran, motivasi, dan

masuk dalam menyelesaikan skripsi ini.

7. Dr. Supono, S.Pi., M.Si. selaku dosen pembahas yang telah memberikan kritik, saran, serta masukan dalam menyelesaikan skripsi.
8. drh. Toha Tusihadi, selaku Kepala Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang yang telah mengizinkan penulis untuk melaksanakan penelitian di BPKIL Serang.
9. Yan Evan, S.Pi, M.Si., Dinarti, S.Si., Yasintha Inggariyanti, A.Md., drh. Rismelsy, Tatang Sudiman, Mentari Yuliana Jaya, dan seluruh karyawan Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang atas bantuan selama penulis melaksanakan penelitian.
10. Kedua orang tua dan keluarga saya yang telah memberi bantuan secara finansial dan moral.
11. Teman-teman seperjuangan Budidaya Perairan 2020 atas dukungan dan kebersamaan selama penulis menjadi mahasiswa.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas kebaikan-kebaikan yang penulis dapatkan. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan, untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun guna perbaikan selanjutnya. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan masyarakat.

Bandar Lampung, 4 April 2024

Vidya Ayu Seftiana

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
1.4 Kerangka Pikir.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	5
2.1.1 Klasifikasi <i>V. parahaemolyticus</i>	5
2.1.2 Karakterisasi <i>V. parahaemolyticus</i>	5
2.2 <i>Antimicrobial Resistance</i> (AMR).....	6
2.3 Antibiotik	6
2.3.1 Tetrasiklin.....	7
2.3.2 Oksitetrasiklin	8
2.3.3 Enrofloksasin.....	8
III. METODE PENELITIAN	10
3.1 Waktu dan tempat	10
3.2 Alat dan Bahan.....	10
3.3 Metode Penelitian	12
3.4 Prosedur Penelitian	12
3.4.1 Sterilisasi Peralatan	12

3.4.2 Pengambilan Sampel.....	12
3.4.3 Isolasi Bakteri	13
3.4.4 Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i>	13
3.4.5 Deteksi <i>V. parahaemolyticus</i> menggunakan PCR.....	14
3.4.6 Uji Sensitivitas Antibakteri	15
3.5 Parameter Penelitian	17
3.6 Analisis Data	18
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	19
4.1 Hasil.....	19
4.1.1 Identifikasi Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i>	19
4.1.2 Uji Sensitivitas Antibakteri.....	22
4.2 Pembahasan	25
V. SIMPULAN DAN SARAN	28
5.1 Simpulan	28
5.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA.....	29
LAMPIRAN	36

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat yang digunakan dalam penelitian	10
2. Bahan yang digunakan dalam penelitian	11
3. Pengambilan sampel udang vannamei di Provinsi Banten	13
4. Komposisi bahan <i>master mix</i>	14
5. Primer sekuens <i>V. parahaemolyticus</i>	15
6. Siklus amplifikasi <i>V. parahaemolyticus</i>	15
7. Standar interpretasi hasil uji difusi cakram antibiotik	17
8. Standar interpretasi hasil uji MIC antibiotik	18
9. Hasil pengamatan morfologi makroskopis dan mikroskopis <i>V. parahaemolyticus</i>	20
10. Hasil pengujian sampel positif <i>V. parahaemolyticus</i> dari <i>hatchery</i> dan tambak udang vannamei di Provinsi Banten	21
11. Hasil uji difusi cakram <i>V. parahaemolyticus</i> terhadap tiga jenis antibiotik di Provinsi Banten	23

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir penelitian	4
2. Morfologi koloni bakteri <i>V. parahaemolyticus</i> secara makroskopis dan mikroskopis	20
3. Deteksi <i>V. parahaemolyticus</i> metode PCR konvensional	21
4. Uji sensitivitas metode difusi cakram terhadap antibiotik berbeda	22
5. Persentase tingkat resistansi <i>V. parahaemolyticus</i> pada antibiotik yang berbeda.....	24
6. Uji sensitivitas terhadap antibiotik ENR (enrofloksasin) dengan metode dilusi MIC	25
7. Pengambilan sampel	37
8. Isolasi sampel udang ke media TSB.....	37
9. Pembuatan media	37
10. Pewarnaan Gram	37
11. Identifikasi bakteri dengan <i>vitek 2 compact</i>	37
12. Deteksi PCR.....	37
13. Uji difusi cakram.....	37
14. Uji MIC	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Dokumentasi penelitian	37

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan potensi perikanan laut lestari sebesar 12,01 juta ton per tahun dan mengalami pertumbuhan nilai produksi pada periode 2015-2019. Hal tersebut menjadi tanda bahwa sumber daya perikanan laut bisa menjadi bagian penting bagi pertumbuhan ekonomi di Indonesia, salah satunya menjadi penggerak devisa negara (Anugrah & Alfarizi, 2021). Sektor perikanan di Indonesia terbagi menjadi 2 bagian yaitu perikanan tangkap dan perikanan budi daya (Destiningsih *et al.*, 2020).

Terdapat banyak komoditas perikanan budi daya di Indonesia, salah satunya yang banyak dibudidayakan adalah udang vannamei. Udang menjadi salah satu komoditas perikanan dengan nilai jual yang tinggi. Hal tersebut menjadikan udang banyak dibudidayakan di Indonesia. Kementerian Kelautan dan Perikanan (2023), menunjukkan komoditas utama pada tahun 2021 mengalami peningkatan produksi sebanyak 16,09%. Produksi perikanan budi daya udang di Indonesia tersebar di 34 provinsi, salah satunya adalah di Provinsi Banten. Pada tahun 2022, Banten menempati urutan ke-12 dengan produksi sebesar 1.306.094 ton (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2022).

Produksi udang dalam praktiknya tidak berjalan dengan lancar. Banyak kendala yang dialami oleh pembudi daya. Penyakit merupakan salah satu kendala yang sering ditemukan terutama pada budi daya udang vannamei. Menurut Rafiqie (2014), penyakit pada udang vannamei disebabkan adanya infeksi bakteri, jamur, protozoa, dan virus. Bakteri menjadi agen penyebab penyakit yang sering ditemukan pada udang vannamei terutama jenis bakteri *Vibrio parahaemolyticus*.

V. parahaemolyticus merupakan spesies bakteri yang secara alami berada di perairan, terutama perairan payau dan laut (Wang *et al.*, 2020). Bakteri ini merupakan salah satu agen penyebab penyakit vibriosis (Evan *et al.*, 2021). Selain itu, *V. parahaemolyticus* yang memiliki gen toksin *pirAB* adalah strain bakteri berpotensi dapat menyebabkan penyakit *acute hepatopancreatic necrosis disease* (AHPND) (Soto-Rodriguez *et al.*, 2022). Penyakit tersebut dapat menyebabkan mortalitas sampai 100% pada udang vannamei yang berusia 46-96 hari setelah penebaran (Suryana *et al.*, 2023).

Antibiotik merupakan salah satu senyawa yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan penyakit atau biasa disebut sebagai obat (Kusumaningrum *et al.*, 2022). Antibiotik golongan tetrasiklin, terutama jenis tetrasiklin dan oksitetrasiklin, merupakan antibiotik yang banyak digunakan pada manusia, kedokteran hewan (Sanjayadi & Violita, 2020), peternakan (Aulia *et al.*, 2023), perikanan (Pawestri *et al.*, 2019), dan tanaman (Diyasti & Lizarmi, 2021). Selain itu, enrofloksasin juga merupakan jenis antibiotik yang banyak digunakan pada kedokteran hewan (Trouchon & Lefebvre, 2016). Meluasnya penggunaan antibiotik menyebabkan pencemaran lingkungan meningkat dengan cepat. Pengolahan air limbah yang tidak tepat menyebabkan evolusi gen yang resisten terhadap antibiotik serta berpotensi memunculkan bakteri yang resistan terhadap antibiotik di berbagai perairan di seluruh dunia (Singh *et al.*, 2019).

Paparan *V. parahaemolyticus* di perairan bersumber dari limbah rumah sakit, instalasi pengolahan limbah, dan limbah obat-obatan yang tidak terpakai yang berkontribusi terhadap beban lingkungan (Khan *et al.*, 2013). Selain itu, dari limbah penggunaan antibiotik pada pertanian dan budi daya ikan air tawar (Bojarski *et al.*, 2020). Limbah dari sumber-sumber ini langsung dibuang ke sungai, laut, dan danau tanpa pengolahan terlebih dahulu. Limbah-limbah tersebut membentuk sedimen di badan air. Hal tersebut menyebabkan peningkatan jumlah gen yang resisten terhadap antibiotik di lingkungan perairan akibat mekanisme transfer gen horizontal, rekombinasi, dan mutasi gen. (Devarajan *et al.*, 2016).

Beberapa pembudi daya udang vannamei di Indonesia banyak yang menggunakan air pemeliharaan bersumber dari laut langsung tanpa melakukan *treatment* terlebih dahulu. Hal ini memungkinkan *V. parahaemolyticus* yang resistan terhadap antibiotik dapat masuk ke lingkungan budi daya dan menyebabkan penyakit pada udang yang sulit ditanggulangi. Keterbatasan informasi mengenai hal tersebut bagi pembudi daya menjadi faktor utama dalam permasalahan ini. Oleh sebab itu, diperlukan studi untuk mendapatkan informasi terkini mengenai resistansi *V. parahaemolyticus* terhadap tiga jenis antibiotik pada budi daya udang vannamei di Provinsi Banten. Temuan penelitian ini dapat menjadi referensi bagi pembudi daya udang vannamei dalam mengurangi infeksi *V. parahaemolyticus*, khususnya di Provinsi Banten. Selain itu, data resistansi *V. parahaemolyticus* di wilayah ini dapat digunakan untuk menginformasikan keputusan pemerintah mengenai penggunaan antibiotik.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari gambaran resistansi *V. parahaemolyticus* terhadap antibiotik tetrasiklin, oksitetrasiklin, dan enrofloksasin pada budi daya udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) di Provinsi Banten.

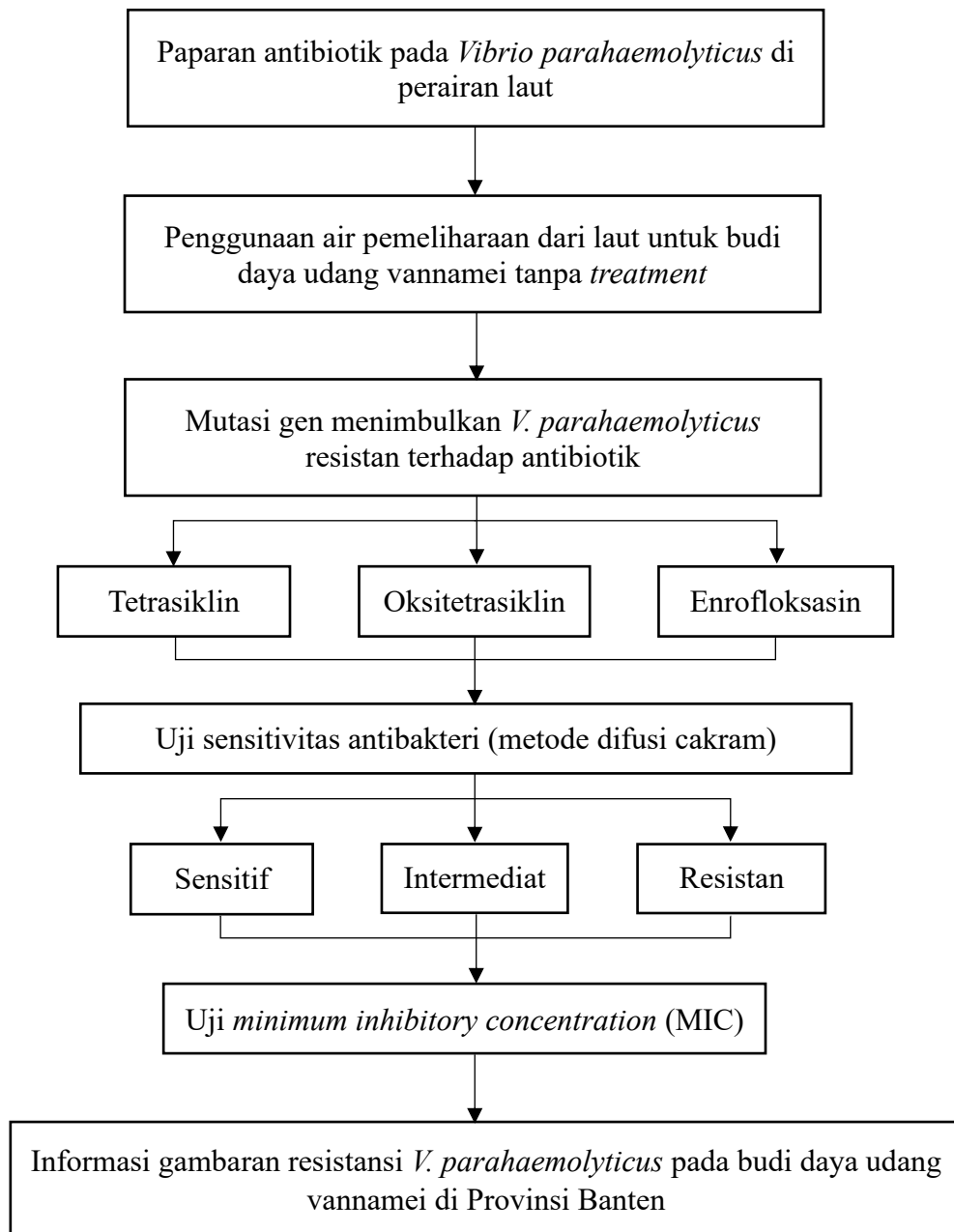
1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat digunakan sebagai informasi mengenai resistansi *V. parahaemolyticus* kepada masyarakat luas terutama pembudi daya udang vannamei di Provinsi Banten.

1.4 Kerangka Pikir

Bakteri *V. parahaemolyticus* merupakan salah satu agen penyebab penyakit pada udang vannamei. Bakteri ini secara alami berada di perairan laut. Paparan antibiotik di perairan laut akibat limbah dari rumah sakit, peternakan, dan budi daya air tawar menimbulkan mutasi gen yang menyebabkan *V. parahaemolyticus* resistan terhadap antibiotik. Bakteri yang resistan pertumbuhannya tidak dapat dihambat oleh antibiotik pada dosis maksimum. Penggunaan air pada budi daya udang tanpa

treatment memungkinkan *V. parahaemolyticus* yang resistan terhadap antibiotik dapat masuk ke lingkungan budi daya dan menyebabkan penyakit pada udang yang sulit untuk ditanggulangi. Keterbatasan informasi mengenai hal tersebut bagi pembudi daya udang vannamei menjadi faktor utama dalam permasalahan ini. Oleh sebab itu, diperlukan studi untuk mendapatkan informasi lebih banyak mengenai resistansi *V. parahaemolyticus* terhadap tiga jenis antibiotik pada budi daya udang vannamei di Provinsi Banten. Kerangka pemikiran penelitian ini disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

2.1.1 Klasifikasi *V. parahaemolyticus*

Menurut Brenner *et al.* (2005) bakteri *V. parahaemolyticus* diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Vibrionales
Famili	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Vibrio</i>
Spesies	: <i>Vibrio parahaemolyticus</i>

Genus *Vibrio* saat ini memiliki sekitar 48 spesies (Pumipuntu & Indrawattana, 2017). Dari beberapa spesies tersebut beberapa di antaranya merupakan agen penting secara klinis, salah satunya adalah *V. parahaemolyticus* (Ramamurthy & Nair, 2007).

2.1.2 Karakterisasi *V. parahaemolyticus*

V. parahaemolyticus adalah bakteri Gram negatif yang bersifat halofilik (Gilardi, 2019). Bakteri ini merupakan bakteri yang membutuhkan garam untuk bertahan hidup dan ion natrium untuk merangsang pertumbuhan. Bakteri dapat tumbuh dalam NaCl 1-8%, dengan kondisi pertumbuhan yang sesuai terjadi pada kisaran 2-4% (Pumipuntu & Indrawattana, 2017). *V. parahaemolyticus* dapat mulai tumbuh pada suhu 5-35°C (Wang *et al.*, 2018). Umumnya, bakteri *V. parahaemolyticus* dapat tumbuh menjadi dua kali lipat setiap 20 menit dalam media pertumbuhan yang diperkaya oleh nutrisi di dalamnya (Chimalapati *et al.*, 2020). Pada media

TCBS agar, *V. parahaemolyticus* yang tumbuh memiliki morfologi koloni bulat, hijau, berukuran 2-3 mm serta berwarna biru tua pada bagian tengahnya. Secara morfo kimia, bakteri ini termasuk ke dalam bakteri Gram-negatif, batang lurus atau melengkung, anaerob fakultatif, motil, sitokrom oksidase positif, dan katalase positif dengan kepekaan tinggi terhadap agen vibriostatik (Aly *et al.*, 2020).

2.2 Antimicrobial Resistance (AMR)

Menurut Pratiwi (2017), *antimicrobial resistance* (AMR) merupakan kemampuan mikroorganisme dapat bertahan terhadap efek dari antibiotik, di antaranya dengan mendapatkan gen resistan lewat mutasi/perubahan/pertukaran plasmid (transfer gen) antar spesies bakteri yang sama. Dalam akuakultur, paparan patogen ikan dan bakteri air terhadap antimikroba mendorong perkembangan resistansi obat (Santos & Ramos, 2018). Bakteri dinyatakan resistan jika pertumbuhannya tidak dapat dihambat oleh antibiotik pada dosis maksimum (Putra *et al.*, 2019). Bakteri menggunakan strategi fenotipis dan genetik yang memungkinkan pertahanan alami terhadap antibiotik dan mekanisme induksi dalam meningkatkan resistansi terhadap bahan kimia antibiotik yang digunakan (Urban-Chmiel *et al.*, 2022). AMR dapat dinyatakan dengan *minimum inhibitory concentration* (MIC) yaitu konsentrasi terendah dari antimikroba yang akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Andrews, 2001).

2.3 Antibiotik

Antibiotik atau antimikroba merupakan salah satu obat yang dianggap ampuh untuk menyembuhkan penyakit pada udang (Lusiastuti, 2021). Penggunaan antimikroba secara tidak tepat dapat mengakibatkan resistansi bakteri dan akumulasi residu antibiotik dalam produk akuakultur (Chen *et al.*, 2020). Berdasarkan Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia Nomor 1/PERMEN-KP/2019 tentang Obat Ikan, dijelaskan bahwa terdapat obat keras yang diperbolehkan untuk digunakan yaitu golongan tetrasiklina (klortetrasiklina, oksitetrasiklina, dan tetrasiklina), makrolida (eritromisina), fluorokuinolon (enrofloksasina), dan sulfonamid. Di dalam antibiotik terkandung bahan kimia yang jika dipakai dalam

jangka panjang bisa menyebabkan bakteri resistan terhadap obat tersebut (Nurjannah *et al.*, 2014). Hal ini mengakibatkan munculnya resistansi antibiotik dalam budi daya ikan dan udang yang dapat berkontribusi pada munculnya resistansi antibiotik penyakit infeksi pada manusia (Reverter *et al.*, 2020).

2.3.1 Tetrasiklin

Tetrasiklin adalah antibiotik manusia dan hewan yang umum digunakan dimana sebagian besar dibuang ke air limbah dalam bentuk senyawa induk (Liao *et al.*, 2021). Tetrasiklin termasuk ke dalam jenis antibiotik penting dari antibiotik spektrum luas yang mencegah pertumbuhan bakteri dengan menghambat biosintesis protein. Antibiotik ini mencakup senyawa dengan aktivitas bakterostatik dan berbagai kegunaan, mulai dari infeksi bakteri Gram-positif dan Gram-negatif hingga yang disebabkan oleh parasit protozoa dan organisme intraseluler (Bennet *et al.*, 2015).

Dalam akuakultur antibiotik jenis ini diberikan baik dalam pakan atau dengan penambahan air. Sebagian besar obat yang tidak dimetabolisme diserap oleh sedimen, di mana sebagian terdegradasi, sedangkan sisanya dilepaskan secara perlahan ke perairan umum (Smith & Samuelsen, 1996). Meluasnya penggunaan agen antibakteri ini tidak dapat dihindari menyebabkan perkembangan resistansi bakteri. Mekanisme ini terjadi melalui gen resistansi tetrasiklin yang dikodekan plasmid (tet), transposon terkonjugasi dan integron, yang memungkinkan gen tet ditransmisikan dari satu spesies, generasi ke spesies lain (Chopra & Roberts, 2001).

Mekanisme tetrasiklin terhadap bakteri Gram negatif yaitu dengan mengganggu sintesis protein bakteri (Schnappinger & Hillen, 1996) dan mengganggu fungsi ribosom unit (Chukwudi, 2016). Tetrasiklin memiliki inti yang terdiri atas empat cincin enam anggota yang tergabung dan dapat menjadikan tetrasiklin untuk berkorelasi dengan subunit 30S dari ribosom bakteri yang dapat menangkal pengikatan oleh molekul tRNA yang dimuat oleh asam amino sehingga sintesis protein pada bakteri terhambat (Anggita *et al.*, 2022). Menurut Pratiwi (2017), ketika antibiotik melewati membran sel, senyawa ini dapat dihilangkan oleh bakteri dengan menggunakan *efflux pump*. Bakteri mengembangkan *efflux pump* yang kuat

untuk mengeluarkan antibodi dari sitoplasma lebih cepat daripada kemampuan senyawa tersebut berdifusi. Oleh karena itu, konsentrasi senyawa antibiotik pada bakteri akan terlalu rendah sehingga tidak efektif. *Efflux pump* adalah variasi pompa yang digunakan untuk memindahkan nutrisi dan produk limbah masuk dan keluar sel. Pompa ini juga digunakan oleh bakteri untuk memproduksi antibiotik dan mengeluarkannya dari sel ke lingkungan sekitarnya. Proses alami ini mencegah infeksi bakteri melalui antibiotik yang diproduksinya. Di sisi lain, cara ini dapat membunuh bakteri lain di lingkungan dan mengganggu pertumbuhan bakteri tersebut.

2.3.2 Oksitetrasiklin

Menurut Dev *et al.* (2020) oksitetrasiklin adalah antibiotik spektrum luas dari kelas tetrasiklin yang melakukan fungsi antibiotik dengan menghambat sintesis protein pada bakteri. Antibiotik ini termasuk ke dalam jenis antibiotik yang hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) (Dewi *et al.*, 2019). Oksitetrasiklin sering digunakan pada budi daya ikan atau udang sebagai agen antibakteri untuk mencegah wabah penyakit. Namun, tanpa disadari sering digunakan secara tidak tepat oleh pembudi daya (Pinto *et al.*, 2023).

Mekanisme kerja oksitetrasiklin ini sama seperti tetrasaiklin karena masih dalam satu golongan yang sama. Menurut Pratiwi (2017), ketika antibiotik melintasi membran sel, senyawa tersebut dapat dihilangkan oleh bakteri menggunakan pompa penghabisan. Bakteri telah mengembangkan pompa penghabisan yang kuat untuk menghilangkan antibodi dari sitoplasma lebih cepat daripada kemampuan senyawa tersebut berdifusi. Pompa ini juga digunakan oleh bakteri untuk memproduksi antibiotik dan mengeluarkannya dari sel ke lingkungan sekitarnya.

2.3.3 Enrofloksasin

Enrofloksasin merupakan antibiotik golongan fluorokuinolon generasi ketiga (Troughon & Lefebvre, 2016). Dalam industri budi daya udang, enrofloksasin sebagai salah satu antibiotik yang digunakan untuk mengobati infeksi bakteri (Flores-Miranda *et al.*, 2012). Penggunaan yang tidak tepat dapat menjadikan bakteri

resistan. Mekanisme resistansi bakteri terhadap golongan fluorokuinolon ini didasarkan pada banyak jalur yaitu perubahan target, perlindungan target, ekspresi target yang lebih rendah dan inaktivasi fluorokuinolon. Mekanisme tersebut dilakukan secara kromosom atau dimediasi oleh plasmid (Ruiz *et al.*, 2012).

Antibiotik enrofloksasin termasuk ke dalam golongan fluorokuinolon. Golongan ini memiliki mekanisme dengan memberikan efek antibakteri dengan mengganggu sintesis DNA dan menyebabkan kerusakan DNA untai ganda yang mematikan selama replikasi DNA terhadap bakteri Gram negatif (Romero *et al.*, 2012). Menurut Allan & Low (2003), fluorokuinolon berikatan kompleks dengan DNA *gyrase* dan menghambat fungsi fisiologis enzim. Penghambatan fungsi enzimatik itu tidak mematikan. Sebaliknya, dengan meningkatkan pembelahan DNA atau dengan memblokir degradasi DNA setelah pembelahan untai ganda oleh enzim, fluorokuinolon meningkatkan konsentrasi kompleks pembelahan intraseluler yang merupakan perantara dalam reaksi yang dimediasi DNA *gyrase*. Ketika enzim pelacak DNA seperti polimerase atau helikase bertabrakan secara kompleks dengan pembelahan ini, maka kerusakan DNA sementara yang dimediasi oleh enzim menjadi permanen. Pelepasan dan akumulasi kerusakan DNA untai ganda permanen inilah yang menyebabkan kematian sel bakteri.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada Februari sampai dengan November 2023 di Laboratorium Mikrobiologi, Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang. Pengambilan dan koleksi data didapatkan dari tambak dan *hatchery* udang vannamei di Provinsi Banten.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam melaksanakan penelitian disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Alat yang digunakan dalam penelitian

No.	Nama Alat	Fungsi
1.	Cawan petri	Mengultur bakteri dan uji difusi.
2.	Tabung <i>schoot</i>	Menampung media.
3.	Labu ukur	Membuat larutan saat uji MIC.
4.	Tabung sentrifus	Menampung sampel.
5.	<i>Bacti Cinerator Sterilizer</i>	Pemanas agar tetap steril.
6.	Gelas ukur	Mengukur akuades saat pembuatan media.
7.	Alat bedah	Membedah (nekropsi) udang.
8.	Mikropipet dan tip	Memindahkan larutan atau cairan dari satu tempat ke tempat yang lainnya.
9.	<i>Vortex mixer</i>	Menghomogenkan sampel.
10.	<i>Digital heatblock</i>	menginkubasi sampel.
11.	<i>Sentrifuge</i>	Menyentrifugasi.
12.	<i>UV Scanner</i>	Membaca hasil elektroforesis.
13.	<i>Thermalcycler</i>	Mengamplifikasi.
14.	<i>Antibiotic zonescale</i>	Mengukur diameter zona hambat saat uji cakram.
15.	Timbangan digital	Menimbang media uji.
16.	Inkubator	Menginkubasi bakteri.
17.	<i>Biosafety Cabinet</i>	Alat yang digunakan agar tetap aseptis.
18.	Autoklaf	Mensterilisasi peralatan dan bahan.

Tabel 1. Alat yang digunakan dalam penelitian (lanjutan)

No.	Nama Alat	Fungsi
19.	Alat tulis	Mencatat hasil data.
20.	<i>Microplate</i>	Menguji MIC.
21.	Vitek 2 Compact	Mengidentifikasi bakteri.
22.	<i>Densi check</i>	Mengukur kekeruhan sesuai Mc Farland.
23.	Jarum ose	Mengambil koloni bakteri.
24.	<i>Hot plate</i>	Menghomogenkan media.
25.	pH meter	Mengukur pH saat pembuatan media MHA dan media MHB.
26.	Gel elektroforesis	Digunakan untuk proses elektroforesis.

Bahan yang digunakan dalam melaksanakan penelitian disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Bahan yang digunakan dalam penelitian

No.	Bahan	Fungsi
1.	Udang vannamei stadia (<i>mysis, post larva</i> dan induk)	Sampel penelitian.
2.	<i>Cotton swab</i>	Memindahkan koloni bakteri.
3.	Media TCBS (<i>thiosulfate citrate bile salt sucrose</i>) (HIMEDIA)	Media selektif dugaan bakteri <i>V. parahaemolyticus</i> .
4.	Media TSB (<i>tryptic soy broth</i>) (Merck)	Media diperkaya untuk isolasi ikan.
5.	Media TSA (<i>tryptic soy agar</i>) (Merck)	Media tumbuh bakteri.
6.	Larutan KOH 3%	Bahan pengujian Gram.
7.	<i>Antibiotic paper disk</i> (Tetrasiklin, Oksitetrasiklin, dan Enrofloksasin) (Oxoid)	Menguji aktivitas antimikroba suatu antibiotik.
9.	Etanol 70%	Sebagai antiseptis.
10.	Media CAMHB (<i>Cation-adjusted mueller hinton Broth</i>) (Sigma-Aldrich)	Media yang digunakan saat uji MIC.
11.	Kartu <i>cassette</i> GN	Untuk identifikasi bakteri.
12.	Larutan fisiologis	Mengencerkan bakteri.
13.	Media MHA (<i>mueller hinton agar</i>) (Oxoid)	Media yang digunakan saat uji difusi.
14.	<i>Reagent reservoir</i>	Menampung cairan saat uji MIC.
15.	<i>Fast lysis buffer</i>	Melarutkan koloni bakteri.
16.	<i>Microtube</i>	Wadah untuk sampel.
17.	<i>Agarose</i>	Proses elektroforesis.
18.	<i>2× mastermix GoTaq green</i> (Promega)	Reagen untuk menghomogenkan.
19.	<i>Nucleus free water</i> (Promega)	Untuk membuat mastermix.
20.	Primer <i>forward Vibrio parahaemolyticus</i>	Sebagai pembatas fragmen DNA target.
21.	Primer <i>reverse V. parahaemolyticus</i>	Sebagai pembatas fragmen DNA target.
22.	Akuades	Membilas <i>agarose</i> .

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksploratif. Sampel berupa udang vannamei *stadia mysis, post larva*, dan induk yang diambil dari *hatchery* dan tambak udang di beberapa kabupaten di Provinsi Banten. Sampel secara individu diisolasi bakteri, kemudian diidentifikasi dengan uji biokimia menggunakan alat Vitek 2 Compact. Isolat positif *V. parahaemolyticus* secara biokimia, dikonfirmasi dengan *polymerase chain reaction* (PCR) mengacu pada metode Tarr *et al.* (2007). Isolat *V. parahaemolyticus* selanjutnya diuji sensitivitasnya dengan metode difusi cakram merujuk pada Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2018. Tiga jenis antibiotik yang digunakan adalah tetrasiklin, oksitetrasiklin, dan enrofloksasin. Hasil uji sensitivitas isolat *V. parahaemolyticus* yang dinyatakan intermediat dilanjutkan uji *minimum inhibitory concentration* (MIC) untuk ditentukan konsentrasi terendah antibiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

3.4 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini meliputi sterilisasi, pengambilan sampel, isolasi, dan identifikasi bakteri. Kemudian dilanjutkan dengan uji sensitivitas antibakteri dengan metode difusi cakram dan metode dilusi (uji MIC) untuk isolat bakteri yang diketahui intermediat.

3.4.1 Sterilisasi Peralatan

Seluruh peralatan yang akan digunakan saat penelitian dilakukan sterilisasi yaitu dengan dicuci menggunakan sabun hingga bersih, kemudian dikeringkan. Setelah kering, peralatan tersebut dibungkus dengan menggunakan kertas dan dibungkus plastik tahan panas. Kemudian disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah selesai dikeringkan di dalam oven dengan suhu 70°C selama 6 jam. Peralatan sudah siap untuk digunakan.

3.4.2 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di *hatchery* dan tambak udang vannamei di

Provinsi Banten, dengan melakukan prosedur pengambilan sampel sebagai berikut:

- a. Sampel udang berupa *mysis* dan *postlarva* dimasukkan ke dalam TSB 9 mL.
- b. Sampel udang berupa induk diambil organ hepatopankreas, insang, dan kaki renang dimasukkan ke dalam TSB 9 mL.

Sampel yang sudah dimasukkan dalam TSB kemudian diberi label dan dicatat asal sampel dan waktu pengambilannya. Sampel diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Ketelurusan sampel yaitu tempat pengambilan sampel, jumlah pembudi daya (lokasi), jenis, dan jumlah sampel dicantumkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengambilan sampel udang vannamei di Provinsi Banten

No	Kab/Kota	Jumlah			
		Lokasi per kab/kota	Sampel per pembudi daya	Ulangan	Sampel/kab /kota
1.	Kab Tangerang	4	3	2	24
2.	Kab Lebak	4	3	2	24
3.	Kab. Serang	4	3	2	24
4.	Kota Serang	4	3	2	24
5.	Kab. Pandeglang	4	3	2	24
Σ sampel					120

3.4.3. Isolasi Bakteri

Sampel udang yang telah dilakukan pengayaan di media TSB selama 24 jam, kemudian dengan menggunakan jarum *ose* digoreskan pada media TCBS agar selanjutnya diinkubasi pada suhu 35°C±2°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, koloni tunggal yang tumbuh pada media TCBS agar dengan warna biru kehijauan diambil menggunakan jarum *ose* dan ditumbuhkan pada media TSA+NaCl 2%, kemudian diinkubasi pada suhu 35°C±2°C selama 24 jam. Koloni yang sudah murni akan dilanjutkan pada prosedur penelitian selanjutnya.

3.4.4 Karakterisasi dan Identifikasi *V. parahaemolyticus*

Isolat terduga bakteri *V. parahaemolyticus* dikarakterisasi melalui pengamatan secara makroskopis maupun mikroskopis, kemudian dilakukan identifikasi dengan uji biokimia menggunakan Vitek 2 Compact. Secara makroskopis dilakukan

dengan menumbuhkan isolat terduga bakteri *V. parahaemolyticus* pada media selektif TCBS agar diinkubasi pada suhu $35^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam dan diamati koloni berwarna biru kehijauan yang memiliki kemampuan untuk memfermentasi sukrosa. Untuk pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan pengamatan morfologi sel bakteri setelah pewarnaan Gram. Selanjutnya isolat bakteri berumur 18-24 jam disuspensikan menggunakan larutan fisiologis 0,45% sebanyak 3 mL sampai mencapai kepadatan bakteri sebesar 0,5 McFarland. Bagian pipa yang terdapat pada *card vitek* GN dimasukkan ke dalam suspensi bakteri dan tahap selanjutnya mengikuti protokol penggunaan Vitek 2 Compact dari provider alat tersebut. Hasil identifikasi dapat dilihat setelah proses identifikasi telah selesai, yaitu 3-7 jam setelah diinkubasi.

3.4.5 Deteksi *V. parahaemolyticus* menggunakan PCR

Isolat yang teridentifikasi positif *V. parahaemolyticus* menggunakan uji biokimia selanjutnya dikonfirmasi menggunakan PCR. Koloni tunggal isolat *V. parahaemolyticus* 18-24 jam diambil 1 ose dan dimasukkan ke dalam *microtube*, kemudian ditambahkan dengan *Fast Lysis Buffer* sebanyak 200 μL dan dihomogenkan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 100°C selama 10 menit. Sampel didinginkan pada suhu ruangan selama 2 menit. Setelah itu, sampel disentrifugasi pada kecepatan 13.000 rcf selama 5 menit. Akan terbentuk *pellet* dan *supernatant* pada *microtube*. *Supernatant* diambil sebanyak 100 μL dan dipindahkan ke dalam *microtube* baru, lalu disimpan pada suhu -20°C .

Tahap selanjutnya adalah amplifikasi. Diawali dengan pembuatan *mastermix* konvensional PCR dengan komposisi bahan pada Tabel 4. Dicampurkan *nucleus free water* (NFW) sebanyak 8,5 μL , $2\times$ *mastermix GoTaq green* 12,5 μL , primer (*forward* dan *reverse*) *V. parahaemolyticus* (Tabel 5) masing-masing 1 μL dan genom hasil ekstraksi sebanyak 2 μL . Selanjutnya dilakukan pengaturan amplifikasi pada *Thermalcycler* dengan pemrograman siklus pada Tabel 6.

Tabel 4. Komposisi bahan *master mix*

No	Bahan <i>master mix</i>	Volume/1 reaksi (μL)
1.	<i>Nucleus free water</i>	8,5
2.	<i>2x mmix go taq greem</i>	12,5
3.	<i>Primer forward</i>	1
4.	<i>Primer reverse</i>	1
5.	Genom hasil ekstraksi	2
Total		25

Tabel 5. Primer sekuens *V. parahaemolyticus*

Target Spesies	Primer	Sekuens (5' to 3')
<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>Vp.flaE-79F</i>	GCA GCT GAT CAA AAC GTT GAG T
	<i>Vp.flaE-934R</i>	ATT ATC GAT CGT GCC ACT CAC

Sumber: Tarr *et al.* (2007).

Tabel 6. Siklus amplifikasi *V. parahaemolyticus*

Kondisi	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	Waktu (detik)	Siklus
<i>Pra denaturation</i>	93	900	1
<i>Denaturation</i>	92	40	
<i>Annealing</i>	57	60	35
<i>Extension</i>	72	90	
<i>Final extension</i>	72	420	1

Setelah amplifikasi selesai, dilakukan elektroforesis. Dimasukkan sebanyak 5 μL , kontrol negatif, sampel, kontrol positif, dan *marker* pada masing-masing *well agarose*, kemudian dielektroforesis selama 25 menit. Setelah selesai *agarose* dicuci dengan akuades dan dilakukan pembacaan hasil.

3.4.6 Uji sensitivitas antibakteri

Isolat bakteri *V. parahaemolyticus* diuji sensitivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dan metode dilusi (uji MIC) untuk isolat bakteri yang diketahui intermediat.

a. Metode difusi cakram

Isolat bakteri ATCC *E.coli* 25922 digunakan sebagai standar pengerjaan. Isolat bakteri *V. parahaemolyticus* yang berusia 18-24 jam pada media TSA+2%NaCl diambil 2-3 koloni kemudian disuspensikan ke dalam larutan fisiologis 0,45%

sampai dengan kepadatan 0,5 McFarland, selanjutnya ditumbuhkan pada media MHA+2%NaCl menggunakan *cotton swab* dengan cara diratakan ke seluruh permukaan media. Kertas cakram dengan kandungan antibiotik masing-masing yaitu tetrasiklin 30 µg, oksitetrasiklin 30 µg, enrofloksasin 5 µg, dan kontrol (*blank disk*) diletakkan di atas biakan bakteri. Kertas cakram tersebut diberi jarak ±24 mm. Kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Sensitivitas bakteri *V. parahaemolyticus* terhadap ketiga antibiotik tersebut dapat ditentukan berdasarkan pengukuran diameter zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan *antibiotic zonescale* dengan 3 kali ulangan.

b. Metode dilusi (Uji MIC)

Uji MIC dilakukan dengan menggunakan metode dilusi pada isolat bakteri *V. parahaemolyticus* yang diketahui intermediet pada uji difusi cakram terhadap antibiotik enrofloksasin. Isolat bakteri ATCC *E. coli* 25922 digunakan sebagai standar pengerjaan. Media yang digunakan adalah CAMHB+2%NaCl. Pengujian menggunakan *microplate* yang berisi kontrol negatif (antibiotik dan bakteri) pada *well* 1, perlakuan (media, antibiotik, dan bakteri) pada *well* 2-11, dan kontrol positif (media dan bakteri) pada *well* 12. Terlebih dahulu dimasukkan media ke dalam *well* 1-12 dengan volume 50 µL. Kemudian pada *well* 1 dan 2 dimasukkan antibiotik dengan volume 50 µL (konsentrasi 512 µg/mL), selanjutnya dihomogenkan. Kemudian dilakukan pengenceran berseri antibiotik pada *well* 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, dan 11 dengan konsentrasi akhir pada *well* berturut-turut yaitu 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, dan 0.5 µg/mL. Pengenceran dilakukan dengan mengambil sebanyak 50 µL dari *well* 2 kemudian dimasukkan pada *well* 3 dan dihomogenkan. Dilakukan hal yang sama pada *well* 4 sampai dengan *well* 11. Pada *well* 11 setelah dihomogenkan diambil 50 µL dan dibuang. Suspensi bakteri dengan konsentrasi 5×10^5 CFU/mL dalam 50 µL dimasukkan pada *well* 2-12. Volume akhir pada setiap *well* adalah 100 µL (antibiotik, media, dan suspensi bakteri) dengan konsentrasi akhir bakteri 5×10^4 CFU/mL pada setiap *well*. *Microplate* kemudian diinkubasi selama 16-20 jam pada suhu 35°C.

3.5 Parameter Penelitian

Dalam penelitian ini terdapat parameter yang digunakan yaitu sensitivitas isolat bakteri *V. parahaemolyticus* terhadap antibiotik tetrasiklin, oksitetrasiklin, dan enrofloksasin dengan metode difusi cakram dan metode dilusi (uji MIC).

1. Uji difusi cakram isolat bakteri *V. parahaemolyticus*

Interpretasi yang digunakan merujuk pada Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2018 (Tabel 7), berdasarkan zona hambat antibiotik terhadap bakteri. Isolat bakteri *V. parahaemolyticus* diinterpretasikan ke dalam tiga kategori yaitu sensitif, intermediat, dan resistan.

Tabel 7. Standar interpretasi hasil uji difusi cakram antibiotik

Antibiotik	Zona hambat (mm)		
	Sensitif	Intermediat	Resistan
Tetrasiklin	≥15	12-14	≤11
Oksitetrasiklin	≥15	12-14	≤11
Enrofloksasin	≥21	16-20	≤15

Sumber : CLSI (2018).

Derajat resistansi isolat bakteri *V. parahaemolyticus* terhadap antibiotik yang digunakan dalam penelitian digambarkan dengan persentase resistansi terhadap keseluruhan jumlah isolat *V. parahaemolyticus* yang diisolasi di Provinsi Banten. Perhitungan persentase resistansi bakteri dilakukan untuk setiap antibiotik yang digunakan dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\% \text{ Resistansi} = \frac{\text{Jumlah isolat yang resistan/intermediat}}{\text{Jumlah isolat yang diuji}} \times 100\%$$

2. Uji MIC

Konsentrasi minimum suatu mikroba yang dibutuhkan untuk menghambat suatu mikroorganisme yang tumbuh dapat diketahui melalui uji MIC. Hasil uji MIC dapat diketahui melalui pengamatan pertumbuhan bakteri berdasarkan kekeruhan yang dihasilkan. Pembacaan hasil MIC dilihat dari *well* tidak terdapat pertumbuhan bakteri (tidak adanya bakteri yang mengendap di dasar). Hasil kemudian disesuaikan dengan standar interpretasi CLSI (2018) (Tabel 8).

Tabel 8. Standar interpretasi hasil uji MIC antibiotik

Antibiotik	MIC ($\mu\text{g/mL}$)		
	Sensitif	Intermediat	Resistan
Tetrasiklin	≤ 4	8	≥ 16
Oksitetrasiklin	≤ 4	8	≥ 16
Enrofloksasin	≤ 1	2	≥ 4

Sumber : CLSI (2018).

3.6 Analisis data

Analisis data hasil penelitian dilakukan secara deskriptif dengan penyajian hasil uji sensitivitas *V. parahaemolyticus* terhadap antibiotik dalam bentuk tabel dan gambar. Data yang sudah dianalisis dibandingkan dengan referensi terbaru mengenai resistansi bakteri *V. parahaemolyticus* di Provinsi Banten.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Vibrio parahaemolyticus yang terdapat di tambak dan *hatchery* udang vannamei di Provinsi Banten memiliki presentase intermediat resistan 19,05% terhadap enrofloksasin dan belum resistan terhadap tetrasiklin dan oksitetrasiklin. Nilai MIC dari isolat intermediat resistan adalah 2 µg/mL.

5.2 Saran

Antibiotik tetrasiklin dan oksitetrasiklin masih bisa digunakan dalam pengobatan di berbagai sektor dengan pengawasan agar tidak mencemari lingkungan dan resistansi bakteri, terutama di lingkungan budi daya udang vannamei.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Allan, R. R., & Low, D. E. 2003. *Fluoroquinolone antibiotics*. Birkhäuser Basel. Winnipeg. 261 hlm.
- Aly, S. M., Eisa, A. A., & ElBanna, N. I. 2020. Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* infection in gilthead seabream (*Sparus auratus*) cultured in Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries*. 24(1): 553-571.
- Andrews, J. M. 2001. Determination of minimum inhibitory concentration. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 48(1): 5-16.
- Anggita, D., Nuraisyah, S., & Wiriansya, E., P. 2022. Mekanisme kerja antibiotik. *UMI Medical Journal*. 7(1): 46-58.
- Anugrah, A. N., & Alfarizi, A. 2021. Literature review: potensi dan pengelolaan sumber daya perikanan laut di Indonesia. *Jurnal Sains Edukatika Indonesia*. 3(2): 31-36.
- Artati, Hurustiady, & Armah, Z. 2016. Pola resistensi bakteri *Staphylococcus* sp. terhadap 5 jenis antibiotik pada sampel PUS. *Media Kesehatan Politeknik Kesehatan Makassar*. 9(2): 60-64.
- Aulia, S. A., Sutiningsih, D., Setyawan, H., & Udiyono, A. 2023. Keberadaan residu tetrasiklin pada daging ayam broiler di Kabupaten Kudus (studi di Pasar Tradisional dan Pasar Modern Tahun 2019). *Jurnal Epidemiologi Kesehatan Komunitas*. 8(1): 69-75.
- Bennet, J. E., Dolin, R., & Blaser, M. J. 2015. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. Elsevier. Philadelphia. 1680 hlm.
- Bobate, S., Mahale, S., Dafale, N.A., & Bajaj, A. 2023. Emergence of environmental antibiotic resistance: mechanism, monitoring and management. *Environmental Advances*. 13(2023): 1-18.
- Bojarski, B., Kot, B., & Witeska, M. 2020. Antibacterials in Aquatic Environment and Their Toxicity to Fish. *Pharmaceuticals*. 13(8): 1-23.

- Brenner, D. J., Krieg, N. R., & Staley, J. T. 2005. Volume 2: The Proteobacteria, Part B: The Gammaproteobacteria. *Springer. New York*. 1106 hlm.
- Chen, J., Sun, R., Pan, C., Sun, Y., Mai, B., & Li, Q. X. 2020. Antibiotics and food safety in aquaculture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 68(43): 11908–11919.
- Chimalapati, S., Lafrance, A. E., Chen, L., & Orth, K. 2020. *Vibrio parahaemolyticus*: Basic techniques for growth, genetic manipulation, and analysis of virulence factors. *Current Protocol in Microbiology*. 59(1): 1-32.
- Chopra, I., & Roberts, M. 2001. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 65(2): 232–260.
- Chukwudi C. U. 2016. rRNA binding sites and the molecular mechanism of action of the tetracyclines. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 60(8): 4433-4441.
- CLSI. 2018. *Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty second informal supplement, 20th informational supplement*. M100-S20-U. Wayne, PA CLSI.
- Destiningsih. R., Septiani, Y., & Verawati, D. M. 2020. Kontribusi dan persebaran subsektor perikanan di Daerah Istimewa Yogyakarta. *Jurnal Ilmu Ekonomi*. 1(2): 82-89.
- Dev, R. K., Mishra, P., Chaudhary, N. K., & Bhattarai, A. 2020. Synthesis, characterization, and antibacterial evaluation of heteroleptic oxytetracycline-salicylaldehyde complexes. *Journal of Chemistry*. 2020: 1-10.
- Devarajan, N., Laffite, A., Mulaji, C. K., Otamonga, J. P., Mpiana, P. T., Mubedi, J. I., Prabakar, K., Ibelings, B. W., & Poté, J. 2016. Occurrence of antibiotic resistance genes and bacterial markers in A Tropical River Receiving-Hospital and Urban Wastewaters. *PloS One*. 11(2): 1-9.
- Dewi, M., Darmawi, Helmi, T. Z., Erina, Gani, B. A., Eliawardani., & Azhar. 2019. Oxytetracycline activities to *Staphylococcus aureus* biofilm inhibition of aceh cattle preputium isolate. *Jurnal Medika Veterinaria*. 13(1): 125-131.
- Dewi, P.W.P., Julyantoro, P.G.S., & Kartika, W.D. 2020. Antibiotics resistance level of *Vibrio* spp. isolated from Northern Bali Area. *Advances in Tropical Biodiversity and Environmental Sciences*. 4(2): 30-34.
- Diyasti, F., & Lizarmi, E. 2021. Kajian penggunaan antibiotik pada komoditas perkebunan. *AGROSCRIPT*. 3(2): 99-112.

- Evan, Y., Indrawati, A., & Pasaribu, F.H. 2021. Pengembangan uji cepat metode koaglutinasi untuk mendeteksi antigen *Vibrio parahaemolyticus* penyebab penyakit vibriosis pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Biodidaktika: Jurnal Biologi dan Pembelajarannya*.16(1): 45-57.
- Flores-Miranda, B. M., Espinosa-Plascencia, A., Gómez-Jiménez, S., López Zavala, A. A., González-Carrillo, H. H., & Bermúdez-Almada, M. C. 2012. Accumulation and elimination of enrofloxacin and ciprofloxacin in tissues of shrimp *Litopenaeus vannamei* under laboratory and farm conditions. *ISRN Pharmaceutics*. 2012: 1-7.
- Gilardi, G. L. 2019. *Glucose Nonfermenting Gram-Negative Bacteria in Clinical Microbiology*. CRC Press. New York. 243 hlm.
- Kaur, S., Sharma, P., Kalia, N., Singh, J., & Sukhraj, K. 2018. Anti-biofilm properties of the fecal probiotic Lactobacilli against *Vibrio* spp. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 8(120): 1-14.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia. 2019. Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia Nomor 1/PERMEN KP/2019 tentang obat ikan.
<https://drive.google.com/file/d/1MwB6ME1xgcS4vef2YvWkPgNXSaH2Jc0C/view>. (diakses pada 19 Juli 2023).
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2022. Produksi budi daya udang di Indonesia.
<https://kkp.go.id/brsdm/sosek/artikel/39265-produksi-budi-daya-udang-di-indonesia>. (diakses pada 19 Juli 2023).
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2023. Data nilai produksi perikanan budidaya menurut komoditas utama.
https://statistik.kkp.go.id/home.php?m=prod_ikan_prov&i=2#panel-footer-kpda. (diakses pada 19 Februari 2024).
- Khan, G. A., Berglund, B., Khan, K.M., Lindgren, P., & Fick, J. 2013. Occurrence and abundance of antibiotics and resistance genes in rivers, canal and near drug formulation facilities – a study in Pakistan. *PloS one*. 8(6): 1-8.
- Kusumaningrum, F., Suciyono, & Andriyono, S. 2022. Analisis residu antibiotik pada udang vanname (*Litopenaeus vannamei*) di Tambak Intensif Kalipuro, Banyuwangi. *Barakuda*. 45(2): 180-186.
- Larsson, D.G.J., & Flach, C.F. 2022. Antibiotic resistance in the environment. *Nature Reviews Microbiology*. 20(5): 257-269.
- Liao, Q., Rong, H., Zhao, M., Luo, H., Chu, Z., & Wang, R. 2021. Interaction between tetracycline and microorganisms during wastewater treatment: A review. *The Science of the Total Environment*. 757: 1-13.

- Lusiastuti, A. M. 2021. Penggunaan antibiotika di akuakultur dengan bijak untuk pengendalian resistensi antimikroba. *Warta Iktiologi*. 5(3): 57-62.
- Munita, J. M., & Arias, C. A. 2016. Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiology Spectrum*. 4(2): 1-37.
- Nurjannah, A., Prayitno, S. B., & Sarjito. 2014. Sensitivitas bakteri *Aeromonas* sp. dan *Pseudomonas* sp. yang diisolasi pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) sakit terhadap berbagai macam obat beredar. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3(4): 308-316.
- Pawestri, W., Satria, G. D., Hakimah, N., & Yudhabuntara, D. 2019. Deteksi kejadian residu tetrasiklin pada daging ikan nila di Kota Yogyakarta dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). *Jurnal Sain Veteriner*. 37(2): 185-192.
- Pinto, N., Naik, M. G., Kumar, N. B. T., Shankar, K. M., Rakesh, K., Abhiman, P. B., Sathish, R. P., & Ramesh, K.S. 2023. Oxytetracycline efficacy and preliminary establishment of pharmacokinetic residues in tropical fish, *Catla catla* (Hamilton, 1822). *Aquaculture*. 571: 1-7.
- Pratiwi, R. H. 2017. Mekanisme pertahanan bakteri patogen terhadap antibiotik. *Jurnal Pro-Life*. 4(3): 418-429.
- Pumipuntu, N., & Indrawattana, N. 2017. *V. parahaemolyticus*: a seafood-borne pathogen. *J Trop Med Parasitol*. 40(2): 50-62.
- Putra, A. R. S., Effendi, M. H., Koesdarto, S., Suwarno, Tyasningsih, W., & Estoepangestie, A. T. S. 2019. Identifikasi bakteri *Escherichia coli* penghasil extended spectrum β -Lactamase dari swab rectal sapi perah menggunakan metode vitek-2 di KUD Tani Wilis Sendang Kabupaten Tulungagung. *Journal of Basic Medicine Veterinary*. 8(2): 108-114.
- Putri, A. R., Suswati, E., & Indreswari, L. 2018. Resistensi *Escherichia coli* dari isolat daging ayam broiler terhadap tetrasiklin. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*. 4(1): 38-44.
- Rafiqie, M. 2014. Penyakit udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) di Tambak PT. Tanjung Bejo, Pajajaran Kabupaten Probolinggo. *Jurnal Ilmu Perikanan*. 5(1): 20-24.
- Ramadhaniah, V., Indrawati, A., & Prasetyo, B. F. 2023. Activity of garlic (*Allium sativum* L.) extract against *V. parahaemolyticus* bacteria. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 1174: 1-10.
- Ramamurthy, T., & Nair, G. B. 2007. *Infections Disease: Foodborne Diseases*. Totowa Humana Press Inc. New Jersey. 156 hlm.

- Reverter, M., Sarter, S., Caruso, D., Avarre, J. C., Combe, M., Pepey, E., Pouyaud, L., Vega-Heredía, S., Verdal, H. D., & Gozlan, R. E. 2020. Aquaculture at the crossroads of global warming and antimicrobial resistance. *Nat. Commun.* 11(1): 1–8.
- Romero, J., Gloria, C., & Navarrete, P. 2012. *Health and Environment in Aquaculture*. Books on Demand. Santiago. 430 hlm.
- Ruiz, J., Pons, M.J., & Gomes, C. 2012. Transferable mechanisms of quinolone resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 40: 196-203.
- Sanjayadi, & Violita, L.B. 2020. Penetapan kadar tetrasiklin dalam Air Limbah dengan *high performance liquid chromatography-photodiode array detector* (HPLC-PDA). *Jurnal Farmasi Galenika*. 6(2): 237-242.
- Santos, L., & Ramos, F. 2018. Antimicrobial resistance in aquaculture: Current knowledge and alternatives to tackle the problem. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 52(2): 135-143.
- Schnappinger, D., & Hillen, W. 1996. Tetracyclines: antibiotic action, uptake, and resistance mechanisms. *Archives of microbiology*, 165(6): 359–369.
- Singh, R., Singh, A.P., Kumar, S., Giri, B.S., & Kim, K. 2019. Antibiotic resistance in major rivers in the world: A systematic review on occurrence, emergence, and management strategies. *Journal of Cleaner Production*. 234: 1484-1505.
- Smith, P, & Samuelson, O.B. 1996. Estimates of the significance of out-washing of oxytetracycline from sediments under atlantic salmon sea-cages. *Aquaculture*. 144: 17–26.
- Soto-Rodriguez, S. A., Lozano-Olvera, R., Montfort, G. R., Zenteno, E., Sánchez Salgado, J. L., Vibanco-Pérez, N., & Rendón, K. G. A. 2022. New insights into the mechanism of action of *PirAB* from *V. parahaemolyticus*. *Toxins*. 14(4): 1-18.
- Suryana, A., Asih, E. N. N., & Insafitri. 2023. Fenomena infeksi *acute hepatopancreatic necrosis disease* pada budidaya udang vannamei di Kabupaten Bangkalan. *Journal of Marine Research*. 12(2): 212-22.
- Suwiryono, J. 2017. *Gambaran Resistensi V. parahaemolyticus Asal Udang Terhadap Antimikroba secara In Vitro dan In Vivo*. (Tesis). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 21 hlm.
- Syafriana, V., Hamida, F., Sukamto, A.R., Aliya, L.S. 2020. Resistensi *Escherichia coli* dari air Danau ISTN Jakarta terhadap antibiotik amoksisilin, tet-

- rasiklin, kloramfenikol, dan siprofloksasin. *Saintech Farma: Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 13(2): 92-98.
- Tan, L., Li, L., Ashbolt, N., Wang, X., Cui, Y., Zhu, X., Xu, Y., Yang, Y., Mao, D., & Luo, Y. 2018. Arctic antibiotic resistance gene contamination, a result of anthropogenic activities and natural origin. *Science of the Total Environment*. 621: 1176–1184.
- Tarr, C. L., Patel, J. S., Puhr, N. D., Sowers, E. G., Bopp, C. A., & Strockbine, N. A. 2007. Identification of *Vibrio* isolates by a multiplex PCR assay and *rpoB* sequence determination. *Journal of Clinical Microbiology*. 45(1): 134-140.
- Trouchon, T., & Lefebvre, S. 2016. A review of enrofloxacin for veterinary use. *Open Journal of Veterinary Medicine*. 6(2): 40-58.
- Urban-Chmiel, R., Marek, A., Stępień-Pyśniak, D., Wieczorek, K., Dec, M., Nowaczek, A., & Osek, J. 2022. Antibiotic resistance in bacteria-a review. *Antibiotics*. 11(8): 1-40.
- Wang, Q., Fu, S., Yang, Q., Hao, J., Zhou, C., & Liu, Y. 2020. The impact of water intrusion on pathogenic *Vibrio* species to inland brackish waters of China. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 17(18): 1-14.
- Wang, Y., Zhang, H., Fodjo, E.K., Kong, C., Gu, R., Han, F., & Shen, X. 2018. Temperature effect study on growth and survival of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in jinjiang oyster (*Crassostrea rivularis*) with rapid count method. *Hindawi: Journal of Food Quality*. 2018: 1-6.
- Widiyanti, P.M., Sudarwanto, M.B., & Widiastuti, R. 2019. Penggunaan antibiotik enrofloksasin sebagai obat hewan dan bahaya residunya terhadap kesehatan masyarakat. *WARTAZOA*. 29(2): 75-84.
- Williams-Nguyen, J., Sallach, J.B., Bartelt-Hunt, S., Boxall, A.B., Durso, L.M., McLain, J.E., Singer, R.S., Snow, D.D., & Zilles, J.L., 2016. Antibiotics and antibiotic resistance in agroecosystems: state of the science. *Journal of Environmental Quality*. 45(2): 394–406.
- Yeung, M., & Thorsen, T. 2016. Development of a more sensitive and specific chromogenic agar medium for the detection of *V. parahaemolyticus* and other *Vibrio* species. *Journal of Visualized Experiments*. 117: 1-9.
- Yoon, J., Bae, Y., Song, H., Lee, S., Moon, S., Oh, S., Lee, S. 2021. Development of enhanced selective media for detection of *V. parahaemolyticus* in oysters. *Food Sci Biotechnol*. 30(3): 475-485.