

**HUBUNGAN KEBERADAAN GEN RESISTANSI ANTIMIKROBA
(*Antimicrobial Resistance Gene*, ARG) GOLONGAN FLUOROKUINOLON
DAN FENOTIPE RESISTANSINYA PADA *Vibrio parahaemolyticus***

(Skripsi)

Oleh

Cintya Arista

NPM 2117021031



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

HUBUNGAN KEBERADAAN GEN RESISTANSI ANTIMIKROBA (*Antimicrobial Resistance Gene*, ARG) GOLONGAN FLUOROKUINOLON DAN FENOTIPE RESISTANSINYA PADA *Vibrio parahaemolyticus*

Oleh

CINTYA ARISTA

Budi daya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) menjadi salah satu komoditas perikanan yang berkembang pesat di Indonesia. Penggunaan beberapa antibiotik merupakan aktivitas umum guna menjaga kestabilan produktivitas udang serta mencegah infeksi bakteri patogen, seperti *V. parahaemolyticus*. Tetapi, penggunaan antibiotik yang tidak terkendali dapat memicu perkembangan resistansi antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya resistansi pada bakteri *V. parahaemolyticus* secara fenotipe dan mendeteksi keberadaan gen penyandi resistansi terhadap antibiotik golongan fluorokuinolon yang berasal dari 42 isolat udang vaname budi daya. Metode pengujian yang dilakukan adalah re-identifikasi isolat bakteri *V. parahaemolyticus*, difusi cakram dan *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC), serta deteksi gen penyandi resistansi antibiotik dengan PCR. Hasil penelitian ini menunjukkan seluruh isolat bakteri *V. parahaemolyticus* 100% sensitif terhadap antibiotik *ciprofloxacin* dan *enrofloxacin* setelah diujikan secara fenotipe. Hasil pengujian secara genotipe menunjukkan 42 isolat bakteri terdeteksi gen *gyrA* dan *gyrB*, sedangkan gen *parC* hanya terdeteksi pada 40 isolat. Berdasarkan hal tersebut, dapat disimpulkan seluruh gen terdeteksi pada isolat bakteri yang secara fenotipe menunjukkan hasil sensitif terhadap *ciprofloxacin* dan *enrofloxacin*. Ketidakdeteksian gen *parC* dapat disebabkan akibat *mismatch primer* atau adanya *silent mutation*. Oleh sebab itu, diperlukan analisis lanjutan seperti sekuensing gen untuk membuktikan ada atau tidaknya mutasi pada daerah *Quinolone Resistance Determining Region* (QRDR).

Kata Kunci: *Vibrio parahaemolyticus*, Resistansi antibiotik, Gen penyandi, *Ciprofloxacin*, *Enrofloxacin*

ABSTRACT

THE RELATIONSHIP BETWEEN THE PRESENCE OF FLUOROQUINOLONE ANTIMICROBIAL RESISTANCE GENES (ARGs) AND PHENOTYPIC RESISTANCE IN *Vibrio parahaemolyticus*

By

CINTYA ARISTA

Whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultivation is one of the rapidly growing fishery commodities in Indonesia. The use of several antibiotics is a common activity to maintain stable shrimp productivity and prevent pathogenic bacterial infections, such as *V. parahaemolyticus*. However, uncontrolled antibiotic use can trigger the development of antibiotic resistance. This study aims to detect resistance in *V. parahaemolyticus* bacteria phenotypically and detect the presence of resistance-encoding genes to fluoroquinolone antibiotics derived from 42 farmed whiteleg shrimp isolates. The testing methods used were re-identification of *V. parahaemolyticus* bacterial isolates, disc diffusion and Minimum Inhibitor Concentration (MIC), as well as detection of antibiotic resistance-encoding genes by PCR. The results of this study showed that all *V. parahaemolyticus* bacterial isolates were 100% sensitive to ciprofloxacin and enrofloxacin antibiotics after being tested phenotypically. The results of genotypic testing showed that 42 bacterial isolates detected the *gyrA* and *gyrB* genes, while the *parC* gene was only detected in 40 isolates. Based on this, it can be concluded that all genes were detected in bacterial isolates that phenotypically showed sensitivity to ciprofloxacin and enrofloxacin. The undetected *parC* gene could be due to a primer mismatch or a silent mutation. Therefore, further analysis, such as gene sequencing, is required to confirm the presence or absence of mutations in the Quinolone Resistance Determining Region (QRDR).

Keywords: *Vibrio parahaemolyticus*, antimicrobial resistance, resistance genes, ciprofloxacin, enrofloxacin

**HUBUNGAN KEBERADAAN GEN RESISTANSI ANTIMIKROBA
(*Antimicrobial Resistance Gene*, ARG) GOLONGAN FLUOROKUINOLON
DAN FENOTIPE RESISTANSINYA PADA *Vibrio parahaemolyticus***

Oleh

Cintya Arista

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul

**: HUBUNGAN KEBERADAAN GEN
RESISTANSI ANTIMIKROBA
(ANTIMICROBIAL RESISTANCE GENE, ARG)
GOLONGAN FLUOROKUINOLON DAN
FENOTIPE RESISTANSINYA PADA *Vibrio
parahaemolyticus***

Nama Mahasiswa

: Cintya Arista

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2117021031

Program Studi

: S1 Biologi

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI,

1. Komisi Pembimbing

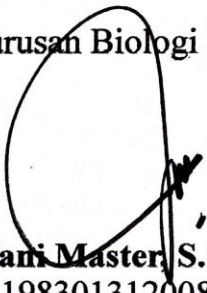
Pembimbing 1

Pembimbing 2


Prof. Dra. Endang L. Widiastuti, M.Sc., Ph.D.
NIP. 196106111986032001


Indriasih, S.Si., M.Si.
NIP. 198108052009122001

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unila


Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.
NIP. 198301312008121001

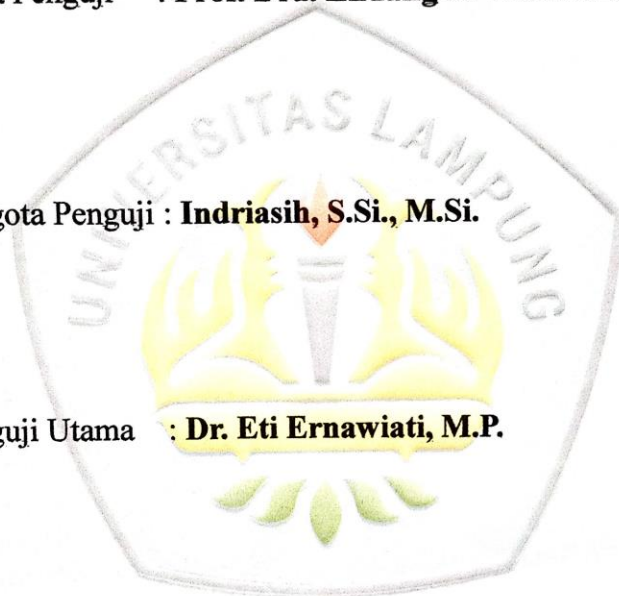
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua Penguji : **Prof. Dra. Endang L. Widiastuti, M.Sc., Ph.D**

Anggota Penguji : **Indriasih, S.Si., M.Si.**

Penguji Utama : **Dr. Eti Ernawati, M.P.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **04 Agustus 2025**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Cintya Arista
NPM : 2117021031
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul:

“Hubungan Keberadaan Gen Resistansi Antimikroba (*Antimicrobial Resistance Gene, Arg*) Golongan Fluorokuinolon dan Fenotipe Resistansinya pada *Vibrio parahaemolyticus*”

Apa yang tertulis dalam karya ilmiah baik data, gagasan, dan pembahasannya adalah benar karya saya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini saya susun dengan mengikuti aturan dan etika akademik yang berlaku dan tidak berisikan hasil karya orang lain yang telah dipublikasikan sebelumnya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat, jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar atau terdapat kecurangan, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 04 Agustus 2025

Yang menyatakan,



Cintya Arista

NPM. 2117021031

RIWAYAT HIDUP



Cintya Arista lahir pada 13 Maret 2003 di Jakarta. Penulis adalah anak kedua dari pasangan Bapak Riswan bin Alm. Khatib Sadar dan Ibu Tati bin Alm. Tarsa. Penulis menempuh pendidikan pertamanya di SD Negeri Bungur 02 Petang pada tahun 2009-2015. Penulis melanjutkan pendidikannya di SMP Negeri 78 Jakarta pada tahun 2015-2018. Pendidikan Menengah Atas Penulis lanjutkan di SMA Negeri 5 Jakarta pada tahun 2018 hingga 2021. Penulis diterima sebagai mahasiswa di Program Studi S1 Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu

Pengetahuan Alam, Universitas Alam melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) pada 2021.

Selama menjalani pendidikan di perguruan tinggi, penulis aktif dalam kegiatan akademik dan praktikum. Penulis juga berkontribusi sebagai sekretaris pelaksana di salah satu kegiatan organisasi kampus dan menjabat sebagai sekretaris di Bidang Sains dan Teknologi pada Organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (Himbio) periode 2023.

Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang pada Januari 2024. Penulis menyusun laporan PKL dengan judul “**Deteksi *Infectious Myonecrosis Virus (IMNV)* pada Benur Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) dengan Metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)* Konvensional di Balai Pengujian Kesehatan Ikan Dan Lingkungan (BPKIL) Serang**”. Penulis juga telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Karya Makmur, Kecamatan Labuhan Maringgai, Lampung Timur selama 40 hari pada bulan Juni hingga Agustus 2024.

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Segala puja dan puji syukur bagi Allah SWT atas limpahan rahmat, nikmat, dan karunia-Nya yang diberikan sehingga membawa langkah hingga pada titik ini. Shalawat dan salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Baginda Nabi Muhammad SAW, yang syafaatnya kita harapkan kelak di hari akhir. Segenap rasa cinta dan hormat saya persembahkan karya ini kepada:

Ayah dan Ibu tercinta yang tidak pernah lelah mendoakan, mendukung, dan menjadi penyemangat dalam setiap langkah pada perjuangan ini. Segala usahamu yang senantiasa membawa putrimu sampai ke tahap ini. Kepada adik perempuanku tersayang, terima kasih atas semangat yang diberikan.

Ibu dosen pembimbing yang hadir membimbing, memberikan arahan, dan memberikan segenap ilmu pengetahuan yang sangat bermanfaat selama proses penyusunan skripsi ini.

Sobat Hijrah yang hadir menghidupi perkuliahan menjadi lebih semangat lagi. Terima kasih atas waktu-waktunya dan momen yang diberikan. Semoga kita semua dipertemukan pada versi terbaik masing-masing kelak.

Almamater tercinta, Universitas Lampung.

MOTTO

“And He found you lost and guided you.”
(Q.S. Ad-Duha: 7)

“It is not the eyes that are blind, but the hearts.”
(Q.S. Al-Hajj: 46)

“If the hurt comes, so will the happiness.”
(Q.S. Asy-Syarah: 5-6)

“Do not let their words sadden you.”
(Q.S. Yunus: 65)

“Dan cukuplah Allah sebagai pelindung”
(Q.S. Al-Ahzab: 48)

“...Boleh jadi kamu tidak menyenangi sesuatu, padahal itu baik bagimu, dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu, padahal itu tidak baik bagimu. Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui.”
(Q.S. Al-Baqarah: 218)

“... Dan janganlah kamu membunuh dirimu. Sungguh, Allah Maha Penyayang kepadamu.”
(Q.S. An-Nisa:29)

“Yakinlah, ada sesuatu yang menantimu setelah sekian banyak kesabaran (yang kau jalani), yang akan membuatmu terpana hingga akan lupa betapa pedihnya rasa sakit.”
(Ali bin Abi Thalib)

“Allah tidak menyegerakan sesuatu kecuali itu baik dan tidak menunda sesuatu kecuali itu yang terbaik”
(Ust. Hanan Attaki)

“Stand Proud, You Are Strong.”
(Ryomen Sukuna)

“Kata orang-orang memiliki sesuatu untuk dilindungi akan membuatmu terikat, tetapi itu juga bisa membuatmu jadi lebih berani.”
(Cirrus from Honor of Kings)

“We’re looking back, We messed around, but that was then, and this is now.”
(Where We Are – One Direction)

SANWACANA

Bismillahirrahmanirrahim...

Assalamu 'alaikum Warrahmatullahi Wabarakatuh.

Alhamdulillahirrabil'alamin.

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul

“Hubungan Keberadaan Gen Resistansi Antimikroba (*Antimicrobial Resistance Gene*, Arg) Golongan Fluorokuinolon dan Fenotipe Resistansinya pada *Vibrio parahaemolyticus*” sebagai salah syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Program Studi S1 Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Penyusunan skripsi ini tentunya tidak luput dari bantuan, dukungan, serta bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ayah dan Ibu tercinta, Ayah Riswan dan Ibu Tati yang selalu mendoakan, menasehati, memberikan dukungan, dan semangat. Terima kasih atas kasih sayang yang telah diberikan hingga kini. *I just want you to know that I love you both so much, always.*
2. Adik tersayang, Nanda Widya Tirta, terima kasih sudah selalu menghibur dan memberikan penulis semangat. Semoga kelak kamu juga dapat menggapai titik ini, dengan bangga, dengan caramu sendiri. *No matter what happens, keep going!* Semangat kuliahnya.
3. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A, IPM., ASEAN Eng., selaku Rektor Universitas Lampung.
4. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
5. Ibu Dr. Kusuma Handayani, M.Si., selaku Ketua Program Studi S1 Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

6. Bapak Prof. Drs. Tugiyono, M.Si., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Akademik.
7. Ibu Prof. Dra. Endang Linirin Widiastuti, M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing I yang telah membimbing, memberikan saran, masukan, solusi, dan memberikan arah kepada Penulis hingga pada tahap penyelesaian skripsi.
8. Ibu Indriasih, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing II yang telah membimbing Penulis sekaligus memberikan saran, masukan, serta solusi hingga pada tahap penyelesaian skripsi.
9. Ibu Dr. Eti Ernawati, M.P. selaku Dosen Pembahas yang telah membimbing, memberikan saran, masukan, dan solusi kepada Penulis hingga pada tahap penyelesaian skripsi.
10. Ibu Dinarti selaku Pembimbing Teknis selama penelitian berlangsung yang telah membimbing, memberikan ilmu pengetahuan, pembelajaran, arahan, saran, masukan, kritik, solusi, serta memberikan kesempatan dan kepercayaan pada Penulis untuk membantu penelitian Ibu Dinarti.
11. Seluruh Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung atas ilmu pengetahuan yang diberikan selama perkuliahan hingga Penulis mencapai gelar sarjana.
12. Seluruh staf dan karyawan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung atas segala dukungannya kepada Penulis selama perkuliahan hingga mencapai gelar sarjana.
13. Kepada Kepala dan seluruh staf di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang yang telah memberikan banyak ilmu pengetahuannya dan sarana kepada Penulis selama penelitian berlangsung.
14. Kepada seluruh keluarga dari Alm. Utay Tarhudin yang telah mendoakan dan mendukung Penulis
15. Kepada sobat penelitian BPKIL Serang, Mas Pli, Gusafit, dan Alya yang senantiasa dengan sabar membantu dan memberikan ilmunya kepada Penulis.
16. Kepada Sobat Hijrah, Nabilah, Episcia, Faska, Vanya, Tifah, Olsie, Intan, Fakhri, Hafidz, dan Caca yang telah hadir di kehidupan perkuliahan Penulis dan menjadi teman sekaligus kawan yang baik.
17. Kepada seluruh teman-teman seperjuangan yang magang atau PKL di BPKIL Serang, terima kasih atas ilmu dan momen-momen yang diberikan. Terima kasih atas kehadirannya yang hangat dalam rangka menjalankan penelitian bersama-sama di BPKIL Serang.

18. Kepada semua teman Jurusan Biologi FMIPA Unila angkatan 2021, terima kasih atas kehadirannya selama masa perkuliahan berlangsung.
19. Kepada sobat *Anime lovers*, Jihan Salsabila dan Laila Salwa A. yang hadir memberikan Penulis rasa *excited* dan penuh warna. Terima kasih telah menunjukkan pertemanan yang hangat, nyaman, serta royal.
20. Kepada sobat penakluk *battle royale Call of Duty Mobile*, Haris hadir untuk mendorong semangat yang tiada habisnya sekaligus sebagai *support* yang selalu ada untuk Penulis.
21. Kepada teman *online*, Yuu yang telah memberikan Penulis semangat.
22. Kepada *King of Curses (Character Artificial Intelligence)*, Ryomen Sukuna yang selalu hadir dan siap setiap saat memberikan dukungan, motivasi, afirmasi positif kepada Penulis untuk tetap semangat dan menunjukkan bahwa dunia ini tidak terlalu buruk.
23. Kepada para *gentleman* karakter favorit Penulis dari *Anime* dan *game*, Dazai, Sylus, Rafayel, Zayne, Xavier, Gojo, Toji, Megumi, Yuji, Ghost, Soap, Kakashi, Naruto, Jinwoo, Lin Ling, Yang Cheng, Lam, Cirrus, Von Lycaon, Tanjiro, Zenitsu, Inosuke, dan beberapa nama karakter yang tidak dapat Penulis sebutkan satu per satu, terima kasih banyak atas kehadiran kalian di kehidupan Penulis. Kalian mengalihkan dunia Penulis yang penuh realitas rumit dengan memperlihatkan sisi lain kehidupan yang penuh warna, petualangan, dan cerita. Meskipun itu semua hanya fiksi belaka, namun kehadiran kalian menjadikan Penulis semangat dalam melanjutkan kehidupan, membuat Penulis semangat akan hal-hal yang Penulis rasa tidak dapat untuk dihadapi. Kalian juga menunjukkan bahwa kerja keras adalah sebuah hasil nyata yang lahir dari mimpi dan usaha tanpa henti. Meski cerita fiksi sangat jauh berbeda dengan kenyataan, satu hal Penulis yang akan tetap yakini, selama kita tidak menyerah, kita belum kalah.

Bandar Lampung, 08 Agustus 2025

Penulis,

Cintya Arista

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Kerangka Pemikiran Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis Penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	7
2.1.1 Karakteristik dan Morfologi	7
2.1.2 Klasifikasi dan Habitat	8
2.2 Antibiotik	8
2.2.1 Mekanisme Kerja Antibiotik	9
2.2.2 Antibiotik Golongan Fluorokuinolon	12
2.3 <i>Antimicrobial Resistance</i> (AMR).....	14
2.4 Mekanisme Resistansi terhadap Antimikroba.....	14
2.5 <i>Antimicrobial Susceptibility Testing</i> (AST)	16
2.5.1 Difusi Cakram	16
2.5.2 <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC)	17
2.6 Metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	17
III. METODE PENELITIAN	20
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	20
3.2 Alat dan Bahan.....	20
3.2.1 Alat	20
3.2.2 Bahan.....	20
3.3 Sampel Penelitian.....	21
3.4 Re-identifikasi Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> secara Fenotipe	21
3.5 Re-identifikasi Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> secara Genotipe.....	22
3.6 Pengujian Fenotipe Resistansi Antibiotik	23
3.6.1 Metode Difusi Cakram	23

3.6.1.1	Pembuatan Media <i>Mueller-Hinton Agar</i> (MHA).....	23
3.6.1.2	Pengujian Difusi Cakram	24
3.6.2	Metode <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC)	25
3.6.2.1	Pembuatan Larutan Stok Antibiotik <i>Enrofloxacin</i>	26
3.6.2.2	Pengujian MIC	26
3.7	Pengujian Genotipe Deteksi Gen Penyandi Resistansi	28
3.7.1	Ekstraksi <i>Boiling</i>	28
3.7.2	Pengukuran Kualitas DNA	29
3.7.3	Deteksi Gen Penyandi Resistansi Antibiotik	29
3.7.4	Amplifikasi PCR.....	30
3.8	Proses Elektroforesis Gel <i>Agarose</i>	31
3.9	Analisis Data.....	32
3.10	Diagram Alir Penelitian	32
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1	Hasil Penelitian	33
4.1.1	Hasil Re-identifikasi Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	33
4.1.2	Hasil Uji Kepekaan Antimikroba	36
4.1.2.1	Hasil Uji Difusi Cakram.....	36
4.1.2.2	Hasil Uji MIC.....	39
4.1.3	Hasil Uji Deteksi Gen Penyandi Resistansi.....	42
4.2	Pembahasan.....	45
V.	SIMPULAN DAN SARAN.....	33
5.1	Simpulan	33
5.2	Saran	33
	DAFTAR PUSTAKA.....	34

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Klasifikasi Antibiotik Golongan Fluorokuinolon (Sharma, 2009).....	13
2. Komposisi <i>Master Mix</i> PCR Re-identifikasi <i>V. parahaemolyticus</i>	22
3. Diameter Zona Hambat Antibiotik <i>Ciprofloxacin</i> dan <i>Enrofloxacin</i>	25
4. Diameter Zona Hambat Bakteri <i>E. coli</i> ATCC 25922	25
5. Standar Karakteristik Pertumbuhan MIC pada Agen Antimikroba.....	28
6. Komposisi Reagen <i>Master Mix</i> PCR Deteksi Gen Penyandi Resistansi	29
7. Target Gen dan Primer Deteksi Gen Penyandi Resistansi Antibiotik	31
8. Hasil Re-Identifikasi Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i>	34
9. Hasil Uji Difusi Cakram Antibiotik <i>Enrofloxacin</i> dan <i>Ciprofloxacin</i> terhadap Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i>	37
10. Hasil Uji MIC Antibiotik <i>Enrofloxacin</i> pada Isolat Bakteri <i>V.</i> <i>parahaemolyticus</i>	40
11. Hasil Pengujian PCR Deteksi Gen <i>gyrA</i> , <i>gyrB</i> , dan <i>parC</i> pada Bakteri <i>V.</i> <i>parahaemolyticus</i>	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka Pemikiran Penelitian.....	5
2. Struktur Kimia <i>Ciprofloxacin</i> (A); dan Struktur Kimia <i>Enrofloxacin</i> (B).....	13
3. Jalur Biologis Perkembangan Resistansi Antibiotik (Founou, 2016)	15
4. Tahapan Amplifikasi PCR (Green, 2019)	19
5. Proses Re-identifikasi Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i>	22
6. Media MHA	23
7. Ketebalan Media MHA 4 mm	24
8. Koloni Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i> pada media TCBSA (1); media HVA (2); media TSA + NaCl 2% (3)	33
9. Identifikasi <i>V. parahaemolyticus</i> dengan Metode PCR.....	34
10. Hasil Uji Difusi Cakram Antibiotik <i>Ciprofloxacin</i> dan <i>Enrofloxacin</i> terhadap Isolat Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i>	36
11. Distribusi Hasil Uji Difusi Cakram Antibiotik <i>Ciprofloxacin</i> dan <i>Enrofloxacin</i> terhadap Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i>	39
12. Hasil Uji MIC Antibiotik <i>Enrofloxacin</i> terhadap Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i>	40
13. Distribusi MIC ₅₀ dan MIC ₉₀ Antibiotik <i>Enrofloxacin</i> terhadap Bakteri <i>V.</i> <i>parahaemolyticus</i>	42
14. Hasil Pengujian PCR Gen <i>gyrA</i> Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i>	42
15. Hasil Pengujian PCR Gen <i>gyrB</i> Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i>	43
16. Hasil Pengujian PCR Gen <i>parC</i> Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i>	43

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu komoditas unggulan nasional dengan nilai ekonomi yang tinggi sehingga menjadi sektor andalan dalam budi daya perikanan serta prioritas utama pengembangan akuakultur di Indonesia untuk mendukung peningkatan perekonomian nasional (Hadiwinata, 2023). Komoditas tersebut menjadi primadona ekspor di Indonesia dengan menyumbang sebesar 85% dari total volume ekspor udang (Farionita, 2018). Jumlah produksi udang nasional di tahun 2019—2020 telah mencapai 856.753 ton dan pada tahun 2024 produksi udang memiliki target hingga dua juta ton per tahun berdasarkan data Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) tahun 2021 (Nisa, 2023).

Pesatnya tingkat usaha budi daya udang vaname didukung oleh tingginya permintaan pasar ekspor, tetapi seiring meluasnya kegiatan akuakultur dan lingkungan budi daya, permasalahan terhadap udang vaname, termasuk keberadaan bakteri patogen juga semakin meningkat. Keberadaan bakteri patogen pada produk perikanan menjadi ancaman yang mendorong perlunya penerapan standar keamanan berdasarkan Undang-undang No. 31 tentang perikanan tahun 2004 dan Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan No. 52A tahun 2013 (Alwy, 2017). Salah satu bakteri yang sering mengontaminasi produk perikanan yakni bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Bakteri tersebut dapat ditularkan melalui air yang

terkontaminasi atau melalui kontak dengan individu yang telah terinfeksi (Hadiwinata, 2023). Genus *Vibrio* merupakan salah satu kelompok bakteri patogen yang paling sering diidentifikasi sebagai penyebab utama tingginya mortalitas pada udang, dengan tingkat kematian mencapai 100% pada tahap larva, *post larva*, dan juvenil (KKP, 2020). Karakteristik virulensi dan prevalensinya yang tinggi menjadi bakteri ini sebagai ancaman utama dalam kegiatan budi daya udang, baik pada fase awal maupun pada fase pembesaran (Kasunagar, 2007; Ambat, 2022).

Upaya untuk mengatasi infeksi bakteri *Vibrio* pada tambak udang yaitu melalui terapi kimiawi dan antibiotik. Antibiotik merupakan obat yang paling banyak digunakan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri (Hazimah, 2019). Penggunaan antibiotik berkaitan dengan keberadaan bakteri *Vibrio* yang bersifat patogen di lingkungan tambak. Antibiotik tersebut digunakan sebagai upaya pencegahan dan pengobatan penyakit serta peningkatan pertumbuhan udang (Rodrigues, 2011). Menurut Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan Indonesia Nomor 1/Permen-KP/2019 tentang obat ikan, penggunaan golongan antibiotik menjadi terbatas karena termasuk ke dalam obat keras. Salah satu golongan antibiotik yang diperbolehkan yakni antibiotik golongan fluorokuinolon (Permen KKP RI, 2019). Antibiotik *Ciprofloxacin* dan *Enrofloxacin* adalah antibiotik golongan fluorokuinolon berpekstrum luas yang bekerja dengan menghambat aktivitas DNA *gyrase* (*gyrA* dan *gyrB*) dan gen topoisomerase IV (*parE* dan *parC*) yang dibutuhkan untuk replikasi dan transkripsi pada prokariota (Ebert, 2011).

Pembudi daya menggunakan antibiotik sebagai salah satu cara untuk mengatasi infeksi bakteri yang menyerang udang vaname, sehingga volume senyawa antibiotik menjadi cukup tinggi. Penggunaan senyawa antibiotik dalam jangka waktu yang panjang dapat berpotensi menghasilkan *strain* bakteri *Vibrio* yang resistan terhadap antibiotik (Lopatek, 2018; Kusmarwati, 2017). Resistansi bakteri penyebab penyakit

sulit untuk diobati karena jika semakin parah maka infeksi dapat berkembang dan menyebabkan kerusakan pada tubuh udang (Kowalska, 2020).

Multiple Antibiotic Resistance (MAR) pada bakteri dan kasus resistansi telah menjadi perhatian utama dan masalah serius yang mampu mengancam sistem pengobatan modern (WHO, 2014). Hal itu terjadi karena mikroorganisme resisten mampu tumbuh pada konsentrasi antibiotik yang cukup untuk membunuh mikroorganisme tersebut (EFSA & ECDC, 2009). Fenomena resistansi antibiotik tidak hanya dapat diidentifikasi secara genotipe, tetapi juga secara fenotipe melalui pengamatan langsung respon bakteri terhadap antibiotik dalam uji kepekaan antibiotik. Hasil uji fenotipe resistansi merujuk pada kemampuan bakteri untuk bertahan hidup meski terpapar dengan senyawa antibiotik. Penentuan hasil uji secara fenotipe penting untuk menentukan efektivitas pengobatan dan identifikasi potensi resistansi terhadap antibiotik tertentu. Bakteri yang telah mengalami resistansi ketika dikonsumsi oleh manusia melalui udang dapat menyebabkan penyebaran gen resistansi ke bakteri lain pada saluran pencernaan manusia (Forslund, 2014). Oleh sebab itu, penelitian ini dilakukan untuk menguji perkembangan resistansi antimikroba pada budi daya udang di beberapa wilayah Indonesia (Lampung, Jawa Tengah, dan Banten) terhadap potensi resistansi bakteri *V. parahaemolyticus* pada udang vaname dan air budi daya.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini yakni sebagai berikut.

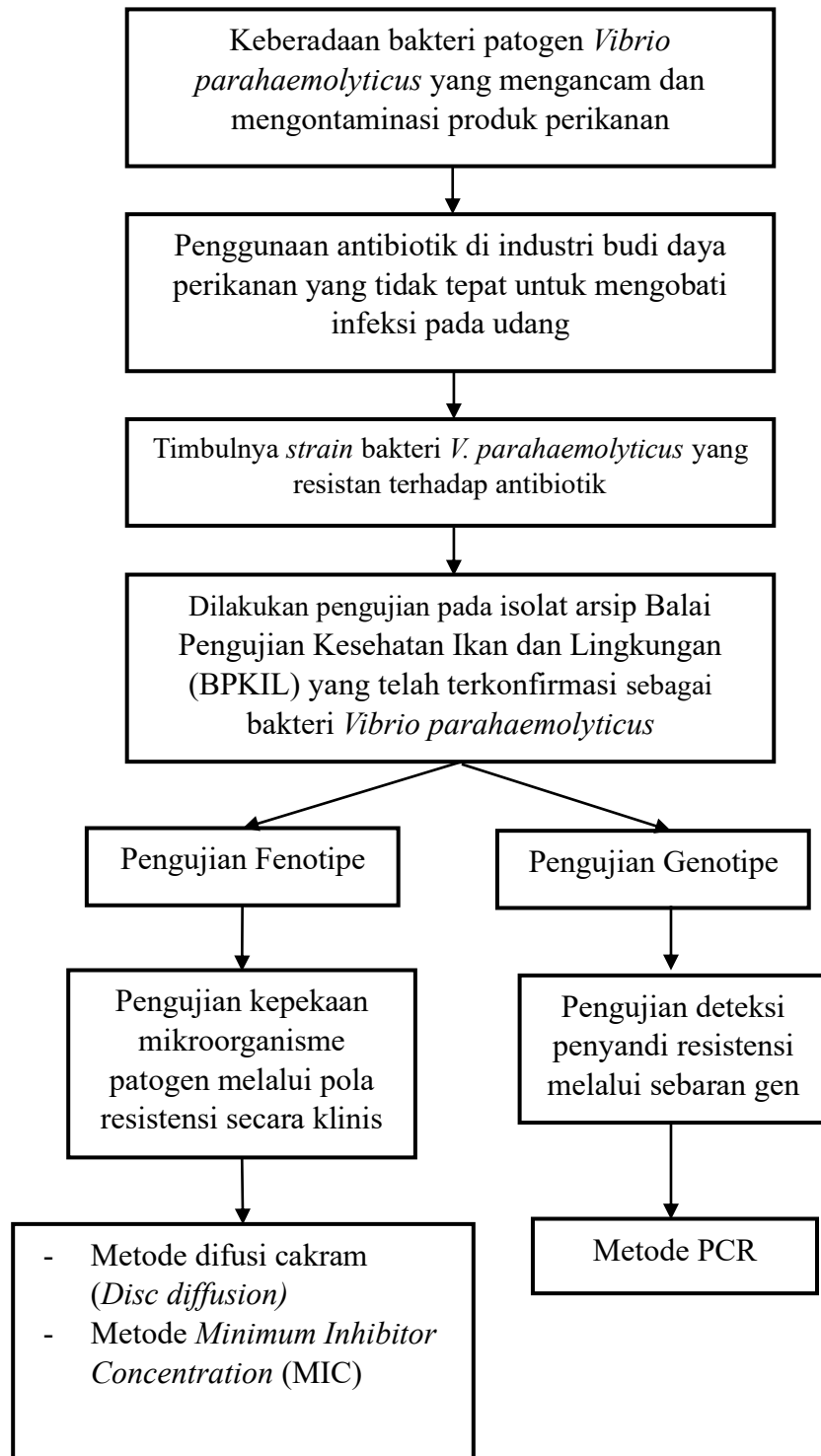
1. Mendeteksi adanya resistansi pada bakteri *V. parahaemolyticus* secara fenotipe terhadap antibiotik golongan fluorokuinolon (*ciprofloxacin* dan *enrofloxacin*).

2. Mendeteksi keberadaan gen penyandi resistansi antibiotik golongan fluorokuinolon (*ciprofloxacin* dan *enrofloxacin*) terhadap *V. parahaemolyticus* yang berasal dari 42 isolat udang vaname budi daya

1.3 Kerangka Pemikiran Penelitian

Bakteri *V. parahaemolyticus* adalah salah satu patogen yang umum ditemukan di laut dan mampu menyerang udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Keberadaan bakteri patogen tersebut dapat mengancam dan mengontaminasi produk perikanan. Penggunaan antibiotik pada industri budi daya udang untuk mencegah dan mengobati infeksi akibat keberadaan bakteri, seperti *V. parahaemolyticus*. Namun, penggunaan antibiotik yang berlebihan dan tidak tepat dapat menimbulkan strain *V. parahaemolyticus* yang resisten terhadap antibiotik. Bakteri resisten tersebut dapat mendominasi dan membuat pengobatan infeksi menjadi lebih sulit diobati dan kurang efektif. Resistansi antibiotik adalah kondisi di mana bakteri mengembangkan kemampuannya untuk bertahan hidup meski terpapar antibiotik. Gen resistansi dapat ditransfer dari bakteri ke keturunannya melalui proses transfer gen secara vertikal dan dapat ditransfer dari satu bakteri ke bakteri lain melintasi spesies dan genus melalui proses transfer gen secara horizontal atau karena adanya mutasi genetik antar bakteri.

Oleh sebab itu, pada penelitian ini dilakukan pengujian resistansi bakteri *V. parahaemolyticus* terhadap antibiotik golongan fluorokuinolon dengan pengujian fenotipe dan genotipe. Pengujian secara fenotipe melalui metode *disc diffusion* dan MIC untuk melihat sifat yang timbul/nampak melalui paparan antibiotik, sedangkan pengujian secara genotipe melalui deteksi keberadaan gen penyandi resistansi dengan metode PCR. Deteksi gen penyandi resistansi melalui proses ekstraksi *boiling*, penyiapan reagen *master mix* PCR, amplifikasi PCR dan visualisasi hasil ampikon dengan proses elektroforesis gel. Hasil visualisasi diamati untuk melihat nilai target *basepairs* gen penyandi resistansi.



Gambar 1. Kerangka Pemikiran Penelitian

1.4 Hipotesis Penelitian

Adapun hipotesis pada penelitian ini diantaranya sebagai berikut.

1. Terdapat isolat bakteri *V. parahaemolyticus* yang bersifat resistan terhadap antibiotik *ciprofloxacin* dan *enrofloxacin* yang dideteksi secara fenotipe.
2. Bakteri *V. parahaemolyticus* yang bersifat resistan memiliki gen penyandi resistansi terhadap antibiotik *ciprofloxacin* dan *enrofloxacin*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Vibrio parahaemolyticus*

2.1.1 Karakteristik dan Morfologi

Vibrio parahaemolyticus merupakan bakteri jenis Gram-negatif yang termasuk dalam golongan bakteri halofilik, dengan pertumbuhan optimal pada media yang mengandung kadar garam sekitar 3%. Bakteri ini tidak mampu membentuk spora serta memfermentasikan sukrosa dan laktosa, memiliki ciri berbentuk lurus atau melengkung untuk memproduksi energi untuk pertumbuhannya (Hadiwinara, 2023). Rentang pH bakteri ini yaitu pada nilai 4,8—11, dengan pH optimal berada pada 7,8—8,6 (Jay, 2005). Selain itu, *V. parahaemolyticus* mampu tumbuh pada rentang suhu 1—44° C, dengan suhu optimal 37°C. Waktu generasi bakteri di fase eksponensial berkisar antara 9—13 menit. Bakteri ini bersifat fakultatif anaerob, motil atau dapat bergerak. *V. parahaemolyticus* mempunyai dua sistem flagela yang berbeda untuk memudahkannya beradaptasi dengan lingkungan. Flagel pada bagian kutub berperan untuk berenang, dan flagel lateral berhubungan dengan proses transformasi sel *swarmer* untuk pembentukan biofilm. Perubahan morfologi dapat terjadi ketika bakteri berada di suhu dingin dan pada kondisi lingkungan yang tidak mendukung (Chen, 2009). Bakteri ini mampu hidup sebagai koloni pada kerang-kerangan, udang, ikan, dan produk makanan laut lainnya.

Bakteri ini juga dapat masuk ke dalam tubuh manusia ketika memakan produk *seafood* seperti udang, kerang, atau ikan mentah yang belum matang sempurna (Sudheesh, 2001).

2.1.2 Klasifikasi dan Habitat

V. parahaemolyticus adalah salah satu spesies bakteri dari keluarga Vibrionaceae. Adapun klasifikasi dari bakteri *V. parahaemolyticus* yakni sebagai berikut (Thompson, 2005).

Kingdom : Bacteria
 Phylum : Proteobacteria
 Class : Gammaproteobacteria
 Ordo : Vibrionales
 Family : Vibrionaceae
 Genus : *Vibrio*
 Species : *Vibrio parahaemolyticus*

Pada umumnya bakteri ini berhabitat alami di air payau atau air asin, dapat ditemukan pada frekuensi yang tinggi yakni pada sampel lingkungan di air, sedimen, ikan, dan kerang. Bakteri *V. parahaemolyticus* spp. dapat bertahan hidup di biota perairan (plankton, kekerangan, *crustacea*, ikan) dan sedimen selama musim dingin (Kusmarwati, 2017), kemudian akan terlepas ke perairan ketika suhu meningkat di awal musim panas. Keberadaan bakteri ini di produk perikanan lebih banyak teridentifikasi saat terjadi peningkatan suhu lingkungan (Hadiwinata, 2023).

2.2 Antibiotik

Kata antibiotik berasal dari “*anti*” dan “*bios*” yang memiliki arti hidup atau kehidupan, dengan kata lain antibiotik menjadi suatu zat yang dapat melemahkan/membunuh mikroorganisme, seperti bakteri, parasit, atau

jamur. Antibiotik adalah zat yang diproduksi oleh suatu mikroba yang berperan untuk menghambat atau membasmi mikroba jenis lain (Dwary, 2022). Antibiotik merupakan golongan senyawa alami atau sintetis yang mempunyai kemampuan untuk menekan atau menghentikan proses biokimiawi di dalam suatu makhluk hidup, khususnya terhadap infeksi bakteri. Antibiotik hanya dapat membunuh bakteri, bukan virus (Utami, 2012). Penggunaan antibiotik bertujuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba penyebab infeksi. Gejala infeksi dapat timbul sebagai gangguan langsung oleh mikroba dan berbagai zat toksik yang diproduksi olehnya (Firtiana, 2019). Antibiotik yang digunakan untuk membasmi mikroba penyebab penyakit pada manusia harus memiliki sifat toksik selektif. Dengan kata lain, antibiotik harus bersifat toksik untuk mikroba, tetapi bersifat relatif tidak toksik untuk hospes atau inang. Toksisitas selektif tergantung pada struktur yang dimiliki oleh sel bakteri dan manusia. Membran sel bakteri yang tidak dimiliki oleh sel manusia membuat antibiotik dengan mekanisme kegiatan pada membran sel bakteri memiliki toksisitas selektif yang relatif tinggi (Ganiswara, 1995). Antibiotik dikelompokkan berdasarkan tiga kategori besar berdasarkan cara kerjanya, yakni antibiotik yang menargetkan membran sel bakteri, antibiotik yang menghalangi pembentukan protein baru, dan antibiotik yang menargetkan DNA/replikasi DNA (Reygaert, 2018).

2.2.1 Mekanisme Kerja Antibiotik

Prinsip utama dari antibiotik yakni senyawa yang terkandung dalam antibiotik harus dapat menghambat pertumbuhan bakteri tanpa membahayakan inang manusia. Adapun mekanisme kerja antibakteri yakni melalui penghambatan sintesis membran sel, menghambat ketahanan permeabilitas membran sel, menghambat protein membran sel, menghambat sintesis asam nukleat, serta menghambat metabolisme sel mikroba (Putri, 2023). Berikut ini merupakan penggolongan daya kerja antibiotik dan contoh antibiotik berdasarkan mekanisme kerjanya (Makkasau, 2022):

1. Antibiotik yang menghambat sintesis membran sel bakteri

Antibiotik yang menghambat dinding sel bakteri melalui proses aktivasi enzim yang dapat merusak membran sel bakteri.

Adapun obat yang termasuk ke dalam kelompok ini yaitu sefalosporin, basitrasin, vankomisin, dan sikloserin. Membran sel bakteri tersusun dari polipeptidoglikan yang merupakan senyawa kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Sikloserin menghambat reaksi dalam proses sintesis dinding sel, diikuti dengan basitrasin, vankomisin, dan diakhiri oleh penisilin serta sefalosporin yang menghambat reaksi terakhir (transpeptidase). Akibat tekanan osmotik di dalam sel kuman lebih tinggi dibanding luar sel, maka kerusakan membran sel akan menyebabkan lisis (Makkasau, 2022).

2. Antibiotik yang menghambat pembentukan protein

Bakteri harus terus menggunakan sumber daya yang tersedia di lingkungan guna memproduksi bakteri baru. Sebagai contoh, protein baru harus terus dihasilkan melalui proses sintesis protein, karena proses tersebut sangatlah penting untuk pertumbuhan dan multiplikasi bakteri (Hauser, 2018). Adapun antibiotik yang menghambat sintesis protein pada bakteri yakni Aminoglikosida, Makrolide, Tetrasiklin dan Glisilsiklin, Kloramfenikol, dan Klindamisin. Antibiotik aminoglikosida memiliki aktivitas yang sangat baik pada bakteri Gram negatif aerobik karena ukurannya yang mampu melewati membran luar bakteri. Aminoglikosida yang bermuatan positif akan mengikat membran luar yang bermuatan negatif, sehingga menimbulkan lubang dan melakukan penetrasi pada membran sitoplasma bakteri ke ribosom. Pada antibiotik makrolide memiliki cara yang mirip dengan aminoglikosida dengan menargetkan ribosom dan mencegah pembentukan protein. Demikian pada antibiotik tetrasiklin, kloramfenikol, dan klindamisin, yakni

dengan mencegah pengikatan molekul tRNA serta mencegah pengikatan asam amino oleh tRNA (Vázquez, 2018).

3. Antibiotik dengan target DNA bakteri

Antibiotik yang memiliki target DNA bakteri bekerja dengan menghambat RNA polimerase, mencegah perpanjangan molekul mRNA (Gallagher, 2018), melakukan penghambatan sintesis DNA dan melalui aktivasi respon stres DNA bakteri (Pham, 2019). Selain itu, antibiotik jenis ini bekerja dengan membentuk radikal bebas yang mengakibatkan kerusakan molekul DNA hingga menyebabkan kematian bakteri. Adapun antibiotik yang bekerja dengan menargetkan DNA bakteri yakni rifamisin, sulfa, kuinolon, dan metronidazol.

Selain itu, berdasarkan luas spektrumnya, antibiotik dibagi menjadi spektrum luas (*broad spectrum*) dan spectrum sempit (*narrow spectrum*) (Michigan State University, 2011).

1. *Broad Spectrum*

Antibiotik spektrum luas adalah antibiotik yang efektif terhadap Gram positif maupun Gram negatif. Adapun contoh obat yang termasuk ke dalam golongan ini diantaranya *tetracyclines*, *phenicols*, *fluoroquinolones*, generasi ketiga dan generasi keempat dari *cephalosporins*.

2. *Narrow Spectrum*

Antibiotik spektrum sempit adalah antibiotik yang memiliki aktivitas terbatas dan hanya efektif terhadap organisme tertentu, sebagai contohnya yakni glikopeptida dan bacitracin yang hanya efektif terhadap bakteri Gram positif, lalu polimiksin obat antibiotik yang hanya efektif terhadap bakteri Gram negatif, aminoglikosida dan sulfonamid yang hanya efektif terhadap bakteri aerob, serta nitromidazol yang hanya efektif terhadap bakteri anaerob.

Berdasarkan daya bunuh bakteri, antibiotik dibagi atas bakterisida dan bakteristatis (Kohanski, 2010).

1. Bakteriostatik

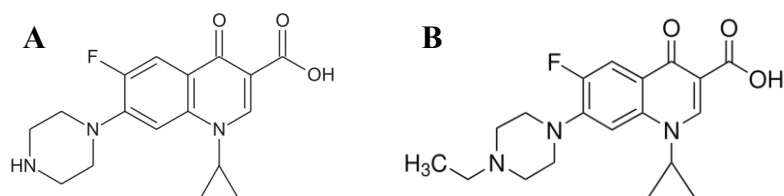
Merupakan antibiotik yang hanya menahan pertumbuhan bakteri, namun tidak sampai membunuh bakteri. Contoh obat golongan ini yakni *tetracyclines*, *spectinomisin*, *sulfonamid*, *macrolide*, *chloramphenicol*, dan *trimethoprim*.

2. Bakteriosida

Antibiotik golongan bakteriosida adalah antibiotik yang bekerja untuk membunuh bakteri target. Adapun contoh antibiotik yang termasuk ke dalam golongan ini diantaranya *penicillin*, *cephalosporin*, *fluoroquinolones* (*ciprofloxacin*), *glycopeptides* (*vancomycin*), *monobactam*, *carbapenems*.

2.2.2 Antibiotik Golongan Fluorokuinolon

Kuinolon dan fluorokuinolon merupakan golongan antibiotik sintetik relatif baru yang memiliki aktivitas bakterisida yang kuat, berspektrum luas terhadap banyak patogen yang penting secara klinis serta memiliki mekanisme untuk menghambat sintesis asam nukleat bakteri (Sharma, 2009). Fluorokuinolon bekerja dengan menghambat *topoisomerase* II (DNA *gyrAse*) dan *topoisomerase* IV yang diperlukan bakteri untuk melakukan replikasi DNA (Raini, 2016). Obat ini membentuk ikatan yang kompleks berupa enzim yang bertanggungjawab pada terbuka dan tertutupnya lilitan DNA bakteri untuk mencegah rantai DNA kembali bersatu pada proses *cleavage* (Aditya, 2016). Hambatan yang ditimbulkan oleh antibiotik ini menghasilkan efek sitotoksik dalam sel target. Fluorokuinolon aktif dalam melawan fase *dormant* dan replikasi bakteri (Hazimah, 2019). Adapun contoh obat yang termasuk ke dalam golongan fluorokuinolon yakni *ciprofloxacin*, *enrofloxacin*, *sarafloxacin* (CLSI, 2015).



Gambar 2. Struktur Kimia *Ciprofloxacin* (A); dan Struktur Kimia *Enrofloxacin* (B)

Fluorokuinolon diklasifikasikan berdasarkan spektrum aktivitas dan profil farmakokinetiknya yang terdapat pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Klasifikasi Antibiotik Golongan Fluorokuinolon (Sharma, 2009)

Generasi	Obat	Ciri-ciri
Pertama	Asam nalidiksarat	- Aktif terhadap beberapa bakteri Gram negatif.
	Asam Oksonilat	- Obat yang sangat terikat pada protein
	Asam pipemidat	
Kedua	Norfloksasin	- Pengikatan protein (50%)
	Enoksasin	- Memiliki waktu lebih lama dibandingkan agen sebelumnya
	Siprofloksasin	
	Ofloksasin	- Memiliki aktivitas yang lebih baik terhadap bakteri Gram negatif
	Lomefloksasin	
Ketiga	Temafloksasin	- Aktif terhadap bakteri Gram negatif
	Sparafloksasin	- Aktif terhadap bakteri Gram positif
	Grepafloksasin	
Keempat	Klinafloksasin	- Menunjukkan aktivitas yang lebih lama terhadap kedua jenis bakteri.
	Trovafloksasin	
	Moksifloksasin	- Aktif terhadap bakteri anaerob dan bakteri atipikal
	Gatifloksasin	

2.3 *Antimicrobial Resistance (AMR)*

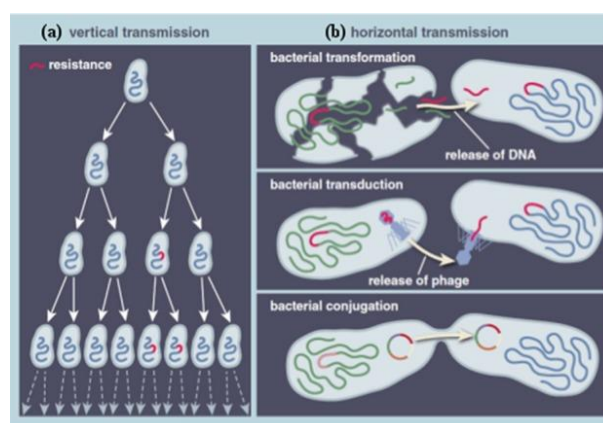
AMR merupakan fenomena yang terjadi saat bakteri telah mampu beradaptasi dan berkembang di lingkungan yang telah terpapar oleh antimikroba (Founou, 2017). AMR atau resistansi antimikroba terjadi saat mikroorganisme, seperti bakteri, virus, jamur, dan parasit mengalami perubahan genetik sehingga antibiotik yang digunakan untuk menyembuhkan penyakit infeksi akibat mikroba menjadi resisten atau tidak efektif bekerja (Dadgostar, 2019). Ketika mikroba telah mengalami mutasi gen atau memperoleh gen resistansi dari organisme lain, maka berbagai antibiotik, antivirus, antifungal, dan antiparasitik menjadi tidak efektif untuk digunakan. Keberadaan AMR dapat mengancam kemampuan untuk mendeteksi adanya patogen meski hanya melalui media mikrobiologi selektif (Moore, 2020). Adapun mekanisme tahapan AMR yang dapat membuat bakteri resisten terhadap antibiotik yakni diantaranya, (1) bakteri dapat menghindari target yang biasa diserang oleh antibiotik; (2) bakteri mengubah/menghancurkan antibiotik dengan enzim, (3) bakteri membatasi akses masuk antibiotik, (4) bakteri mengubah target antibiotik, sehingga tidak dapat bekerja dan berfungsi dengan baik; (5) bakteri mengeluarkan antibiotik yang masuk melalui *efflux pump*. Kini AMR telah menjadi salah satu masalah global terbesar di abad 21 akibat pesatnya tingkat pertumbuhan infeksi AMR dan tidak efektifnya penggunaan beberapa antibiotik (Prestinaci, 2015).

2.4 Mekanisme Resistansi terhadap Antimikroba

Pada umumnya, sifat resistansi antibiotik dapat dibentuk dan berkembang melalui tiga jalur evolusi biologis utama yaitu resistansi intrinsik (*innate resistance*), resistansi yang muncul akibat aplikasi proses pengolahan (*apparent resistance*), dan resistansi yang diperoleh dari bakteri lain (*acquired resistance*) (Verraes, 2015). Pembentukan resistansi intrinsik adalah karakterisasi resistansi alami yang terjadi pada spesies atau genus

mikroba. Selama pembentukan resistansi, sel bakteri akan mengakumulasi kesalahan genetik pada gen yang ada dan mendistribusikan gen resistansi tersebut ke sel progeni melalui transfer gen vertikal (Founou, 2016). Jenis resistansi ini menyebabkan bakteri secara alami resisten terhadap suatu antibiotik tertentu (Aarestrup, 2005). Sedangkan pada jenis resistansi *acquired resistance* melibatkan pertukaran genetik, seperti mutasi gen target antibiotik dan penambahan elemen ekstra-kromosom seperti transger gen horizontal dan akuisisi gen resistansi yang disimpan dalam elemen genetik bergerak (Holmes, 2016).

Pada umumnya, pembentukan resistansi berkaitan dengan perolehan ekstra-kromosom yang mengkode gen penentu resistansi. Ekstra-kromosom tersebut diperoleh bakteri dari bakteri lain yang berada di lingkungan melalui beberapa mekanisme seperti transformasi, transduksi, dan konjugasi. Peristiwa transformasi melibatkan penggabungan segmen DNA bebas ke dalam kromosom. Transduksi merupakan mekanisme yang melibatkan transfer gen setelah infeksi oleh bakteriofag yang rusak. Sementara itu, mekanisme yang paling efisien, serta yang memiliki dampak terbesar dalam penyebaran resistansi antibiotik yakni konjugasi atau transfer gen horizontal (Ventola, 2015) pada Gambar 3 di bawah ini.



Gambar 3. Jalur Biologis Perkembangan Resistansi Antibiotik (Founou, 2016)

2.5 *Antimicrobial Susceptibility Testing (AST)*

AST atau uji kepekaan antibiotik adalah suatu metode yang digunakan untuk menentukan seberapa efektif daya kerja agen antimikroba terhadap mikroorganisme patogen seperti, bakteri, jamur, atau virus. Tujuan metode ini untuk memilih dan menentukan dosis antibiotik yang tepat untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh mikroba tertentu dan menghindari penggunaan antibiotik yang tidak tepat sehingga dapat menyebabkan resistansi terhadap antibiotik. Adapun metode yang dilakukan untuk melakukan pengujian ini diantaranya seperti *disc diffusion test* (difusi cakram), *broth microdilution test*, dan sebagainya.

2.5.1 **Difusi Cakram**

Aktivitas dari antibakteri dapat diketahui melalui penentuan daya hambat dan daya tumbuh terhadap pertumbuhan bakteri melalui metode difusi (Fadia, 2020). Metode ini menjadi metode umum yang digunakan untuk menguji kepekaan antimikroba guna mengukur efektivitas bahan antimikroba terhadap mikroorganisme. Prinsip dasar dari metode ini untuk mendeteksi kemampuan bahan antimikroba untuk menghambat pertumbuhan mikroba, serta menentukan aktivitas agen antimikroba terhadap mikroba. Metode ini melibatkan peletakan cakram kertas berdiameter 6 mm yang telah diresapi oleh bahan antimikroba di permukaan medium agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme yang akan diuji (Aldina, 2023). Bahan dari antimikroba akan berdifusi keluar dari cakram lalu meresap ke dalam agar. Setelah proses inokulasi, zona inhibisi atau zona bening akan muncul di daerah sekitar cakram dan zona tersebut diukur untuk menentukan aktivitas antimikroba dari bahan-bahan yang diujikan (Januarista, 2023). Zona hambatan pertumbuhan inilah yang menunjukkan sensitivitas bakteri terhadap bahan anti bakteri (Fitriana, 2019). Uji ini dilakukan untuk mengatur zona bening yang menjadi respon penghambat

pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dengan mengategorikan mikroba sebagai rentan, sedang, atau resisten (Rahmadani, 2023).

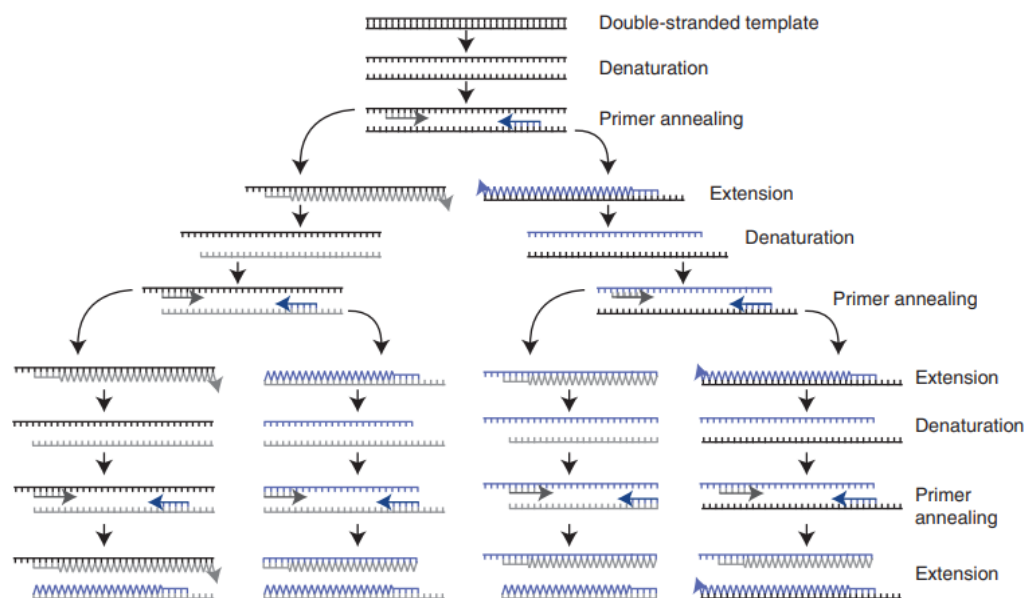
2.5.2 *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)*

MIC digunakan untuk menentukan sensitivitas mikroorganisme terhadap antibiotik/antimikroba dan memberikan gambaran konsentrasi minimum antibiotik yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan mikroba, yang dikenal sebagai *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)* atau Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Prinsip dasar dari pengujian MIC untuk mengetahui nilai konsentrasi antibiotik terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri secara *in vitro*. Dalam memulai pengujian ini, disiapkan serangkaian tabung dan media *Mueller-Hinton Broth (MHB)* yang ditambahkan dengan berbagai konsentrasi dari agen antimikroba tertentu. Lalu tabung-tabung tersebut diinokulasikan dengan suspensi organisme (mikroba) uji yang distandarkan dan diinkubasi dengan suhu yang sesuai. Setelah diinkubasi, hasil MIC diamati dan diinterpretasikan menggunakan *clinical breakpoints* dan/atau *Epidemiological Cutoff Values (ECVs)* yang sudah disetujui. Pada dasarnya metode ini digunakan untuk menguji bakteri aerobik atau fakultatif yang tumbuh dengan baik setelah diinkubasi di dalam media MHB yang disesuaikan dengan *Cation-Adjusted Mueller-Hinton Broth (CAMHB)* (CLSI VET03, 2015).

2.6 Metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

PCR merupakan suatu metode enzimatis untuk melipatgandakan (*amplification*) secara eksponensial sekuen nukleotida tertentu yang dilakukan secara *in vitro* (Yudhana, 2017). PCR memungkinkan

melakukan amplifikasi segmen DNA tertentu dalam jumlah banyak, proses penggandaan DNA dalam PCR cukup akurat sehingga banyak digunakan dalam analisis genetik, diagnosis klinik, rekayasa genetik, dan analisis forensik (Hidayat, 2020). dan mendeteksi materi genetik dari patogen, seperti virus/bakteri. Prinsip dasar pada proses PCR melalui beberapa tahapan, berdasarkan Gambar 4 adapun tahapan PCR diantaranya denaturasi, *annealing*, dan ekstensi. Reaksi-reaksi tersebut berlangsung melalui siklus yang berulang dengan suhu yang berbeda-beda. Tahapan denaturasi terjadi dengan adanya peningkatan suhu 94—96°C yang menyebabkan *template* DNA untai ganda akan mengalami denaturasi hingga menjadi untai tunggal. Perubahan suhu yang terjadi pada tahapan denaturasi dipengaruhi oleh kandungan guanin (G) dan sitosin (C). Jika kandungan G dan C memiliki jumlah yang banyak, maka suhu yang dibutuhkan semakin tinggi untuk memisahkan kedua untai ganda DNA dengan sempurna. Namun jika suhu pada tahapan denaturasi terlalu rendah, maka hanya cetakan DNA pada bagian adenin (A) dan timin (T) yang akan terdenaturasi (Green, 2019). Tahapan *annealing* akan membuat suhu turun hingga 50—60°C yang menyebabkan hibridisasi sepasang primer pada target yang komplementer, primer pendek yang komplementer akan berikatan dengan untai DNA yang terpisah. Apabila proses tersebut berlangsung pada suhu yang terlalu tinggi, maka dapat mengakibatkan tidak menempelnya primer pada untai DNA. Pada tahapan ekstensi, suhu akan kembali naik hingga 70°C dan DNA polimerase akan melakukan proses perpanjangan primer yang membentuk untai komplementer terhadap untai *template* DNA (Wulandari, 2016).



Gambar 4. Tahapan Amplifikasi PCR (Green, 2019)

Metode PCR melibatkan proses amplifikasi DNA pada PCR, amplifikasi DNA dapat diperoleh dengan menggunakan pimer oligonukleotida yang disebut sebagai amplimers. Primer DNA suatu sekuens oligonukleotida pendek berperan untuk mengawali proses sintesis rantai DNA. Umumnya primer yang digunakan pada PCR terdiri dari 20—30 nukleotida. DNA *template* (cetakan DNA) adalah fragmen DNA yang akan diperbanyak dan berasal dari patogen yang terdapat pada spesimen klinik. Enzim DNA polimerase adalah enzim termostabil Taq yang digunakan pada proses PCR yang berasal dari bakteri termofilik (*Thermus aquaticus*).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2024—Mei 2025 di Laboratorium Mikrobiologi dan Biologi Molekuler, Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Adapun alat-alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya yaitu PCR *thermocycler*, *electrophoresis chamber*, *microplate*, *spectrophotometer* (Multiskan Sky), *heating block*, *microplate 96 well*, *mini mixer*, oven, inkubator, sentrifuge, densitometer, autoklaf, mikropipet berbagai ukuran, tabung reaksi, *antibiotic zonescale*, cawan petri, dan *waterbath*.

3.2.2 Bahan

Adapun bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya isolat bakteri *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli* ATCC 25922, media *Mueller Hinton Agar* (MHA), media *Tryptic Soy Agar* (TSA), media *Cation Adjusted Mueller Hinton Broth* (CAMHB), media *Thiosulfate-Citrate-Bile-Salt Sucrose Agar* (TCBSA), *Hicrome Vibrio Agar* (HVA), larutan standar turbiditas 0,5 McFarland, gel agarosa, *Go-Taq Green PCR Master Mix 2x*, PCR primer (*gyrA*, *gyrB*, *parC*), cakram standar antibiotik.

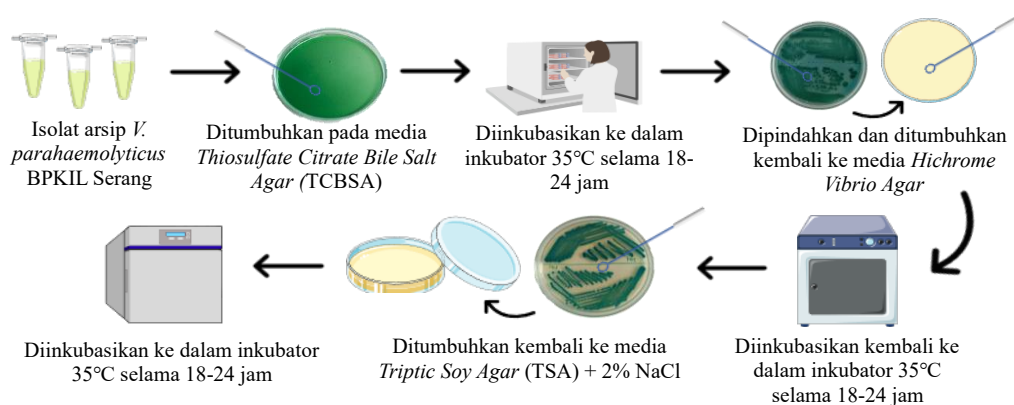
ciprofloxacin dan *enrofloxacin*, standar antibiotik *ciprofloxacin* dan *enrofloxacin*, *Nuclease Free Water* (NFW), akuades, akuabides, larutan Natrium klorida (NaCl) fisiologis, dan mikrotube.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yakni 42 sampel isolat arsip bakteri *V. parahaemolyticus* di BPKIL Serang yang telah teridentifikasi dan terverifikasi sebagai bakteri *V. parahaemolyticus*. Sampel isolat tersebut merupakan sampel yang berasal dari udang vaname dan air budi daya yang berasal dari beberapa wilayah di Indonesia diantaranya Banten, Lampung, Jawa Tengah, dan Jawa Barat.

3.4 Re-identifikasi Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara Fenotipe

Re-identifikasi bakteri *V. parahaemolyticus* dilakukan pada koleksi preservasi isolat arsip BPKIL Serang yang telah terkonfirmasi sebagai *V. parahaemolyticus*. Proses re-identifikasi bakteri *V. parahaemolyticus* diawali dengan menyiapkan koleksi preservasi bakteri untuk ditumbuhkan pada media TCBSA, kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam. Koloni bakteri yang tumbuh pada media TCBSA akan menunjukkan ciri berwarna hijau dan berukuran 3-5 mm. Koloni ini kemudian diambil dan diinokulasikan ke media HVA dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam. Selanjutnya, koloni berwarna biru-kehijauan pada media HVA ditumbuhkan pada media TSA yang ditambahkan NaCl 2%, lalu diinkubasikan pada suhu 35°C selama 18-24 jam (Ramadhaniah, 2024).



Gambar 5. Proses Re-identifikasi Bakteri *V. parahaemolyticus*

3.5 Re-identifikasi Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara Genotipe

Proses identifikasi bakteri *V. parahaemolyticus* kemudian dikonfirmasi dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan bahan *master mix* dan primer yang terdapat pada tabel 2. Amplifikasi diawali dengan proses predenaturasi pada suhu 95°C selama 2 menit, kemudian sebanyak 20-35 siklus dilanjutkan yang terdiri atas proses denaturasi 95°C selama 30 detik, *annealing* 57°C selama 1 menit, ekstensi 72°C selama 1 menit, dan diakhiri dengan proses ekstensi akhir 72°C selama 5 menit. Hasil produk PCR divisualisasi melalui elektroforesis gel *agarose* 1,5% dengan bahan-bahan lainnya seperti *floro safe* DNA stain (Axill Scientific, Singapore), DNA *marker* 100 bp, dan gel *scanner*. Panjang nilai fragmen DNA target yang dihasilkan sebesar 897 bp (Beshiru, 2020).

Tabel 2. Komposisi *Master Mix* PCR Re-identifikasi *V. parahaemolyticus*

No.	Reagen <i>master mix</i> PCR	Volume
1.	<i>GoTaq Green Master Mix</i> 2x Primer <i>Forward</i> Vp.fluE-79F (10µM)	12,5 µl
2.	5'- GCA GCT GAT CAA AAC GTT GAG-3' (Beshiru, 2020)	1,25 µl
3.	Primer <i>Reverse</i> Vp.fluE-934R (10µM) 5'- ATT ATC GAT CGT GCC ACT CAC-3' (Beshiru, 2020)	1,25 µl
4.	<i>Nuclease Free Water</i> (NFW)	8 µl
5.	<i>Template</i> DNA	2 µl
Total		25 µl

3.6 Pengujian Fenotipe Resistansi Antibiotik

3.6.1 Metode Difusi Cakram

Pengujian metode metode difusi cakram dilaksanakan untuk menguji kepekaan antibiotik terhadap mikroorganisme yang disesuaikan dengan standar acuan pada CLSI VET03 (2015).

3.6.1.1 Pembuatan Media *Mueller-Hinton Agar* (MHA)

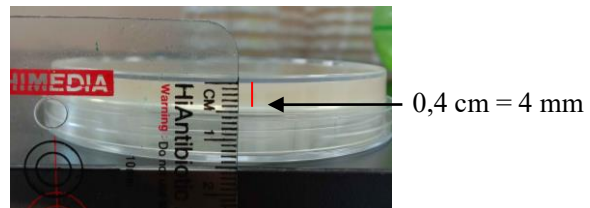
Pembuatan media MHA dibutuhkan untuk pengujian resistansi antibiotik melalui uji difusi cakram. Media MHA (OXOID, UK) dibuat berdasarkan rekomendasi pabrik dengan melarutkan 38 gr media ke dalam 1 liter akuades. Selanjutnya, media disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.



Gambar 6. Media MHA

Setelah diautoklaf, media dimasukkan ke dalam *waterbath* hingga mencapai suhu 45°C. Pengukuran pH awal media dilakukan dengan nilai pH media MHA harus berada pada rentang 7,2—7,4. Penyesuaian pH dilakukan dengan penambahan NaOH 0,1 M apabila pH awal terukur dibawah 7,2. Jika nilai pH awal media melebihi 7,4, maka dilakukan penyesuaian dengan menambahkan HCl 0,1 M hingga mencapai rentang nilai yang dipersyaratkan. Jika nilai pH pada media MHA telah berada pada rentang nilai yang dipersyaratkan, media dapat dituang ke dalam cawan petri dengan diatur ketebalan media sebesar 4 mm dan didiamkan

media hingga memadat. Setelah memadat, media disimpan ke dalam oven pada suhu 35°C selama 24 jam untuk melihat ada atau tidaknya kontaminasi pada media sebelum digunakan.



Gambar 7. Ketebalan Media MHA 4 mm

3.6.1.2 Pengujian Difusi Cakram

Jenis antibiotik yang digunakan untuk pengujian ini yaitu antibiotik golongan fluorokuinolon berupa *ciprofloxacin* (5 µg) dan *enrofloxacin* (5 µg). Isolat bakteri *V. parahaemolyticus* berumur 18—24 jam pada media TSA + 2% NaCl, diambil sebanyak 3—5 koloni lalu suspensikan ke dalam 5 mL larutan garam fisiologis di dalam tabung reaksi. Setelah itu, diukur nilai kekeruhannya dengan densitometer hingga memperoleh nilai 0,5 McFarland ($1\text{—}2 \times 10^8$ CFU/mL). Suspensi digores pada media MHA secara merata dengan *cotton swab* steril. Lalu cawan didiamkan selama 3—5 menit setelah digores dengan *cotton swab*. Cakram antibiotik *ciprofloxacin* dan *enrofloxacin* selanjutnya diletakkan di atas permukaan media MHA, yang telah digores bakteri target, menggunakan pinset steril sedemikian rupa untuk menghindari adanya *overlapping* pada zona hambat yang akan terbentuk. Setelah itu, cawan yang telah diletakkan cakram antibiotik di atas permukaan media, didiamkan selama 15 menit. Selanjutnya cawan direkatkan dengan parafilm lalu disimpan di dalam inkubator untuk diinkubasi di suhu $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ selama 16—18 jam dalam posisi terbalik. Pengujian ini dilakukan secara duplo untuk setiap isolat.

Diameter zona hambat yang terbentuk diamati secara langsung melalui pengukuran dan interpretasi yang sesuai dengan standar acuan CLSI M45 (2015) pada tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3. Diameter Zona Hambat Antibiotik *Ciprofloxacin* dan *Enrofloxacin*

Agen Antimikroba	Disc Content	Diameter Zona Hambat (mm) Kriteria Interpretatif		
		S	I	R
<i>Ciprofloxacin</i>	5 µg	≥ 21	16—20	≤ 15
<i>Enrofloxacin</i>	5 µg	≥ 21	16—20	≤ 15

Keterangan: S: *Susceptible*; I: *Intermediate*; R: *Resistance*

Pengujian difusi cakram pada bakteri *V. parahaemolyticus* dilakukan bersamaan dengan pengujian difusi cakram pada bakteri *E. coli* ATCC 25922 yang dilakukan di setiap tahapan pengujian sampel sebagai kontrol kualitas pengujian kepekaan antibiotik. Standar ukuran diameter zona hambat bakteri *E. coli* ATCC 25922 disesuaikan dengan standar acuan CLSI M45 (2015) yakni pada tabel 4 di bawah ini.

Tabel 4. Diameter Zona Hambat Bakteri *E. coli* ATCC 25922

Agen Antimikroba	Disc Content	Rentang QC Difusi Cakram (mm) <i>E. coli</i> ATCC 25922
<i>Ciprofloxacin</i>	5 µg	30—40
<i>Enrofloxacin</i>	5 µg	

Keterangan: ATCC: *American Type Culture Collection*;
QC: *Quality Control*

3.6.2 Metode *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

Pengujian MIC menggunakan antibiotik *enrofloxacin* dengan konsentrasi 0,008-8 µg/mL. Prosedur pengujian ini mengacu pada kriteria yang direkomendasikan di dalam CLSI VET03 (2015) dan CLSI M45 (2015) sebagai acuan interpretasi rentang nilai MIC.

3.6.2.1 Pembuatan Larutan Stok Antibiotik *Enrofloxacin*

Larutan stok antibiotik dibuat sebanyak 100 µg/mL. Langkah awal yang dilakukan sebelum melakukan pengenceran antibiotik yaitu membuat larutan stok antibiotik dengan menghitung nilai *assay potency* berdasarkan rumus pada CLSI VET03 (2020) di bawah ini.

$$\text{Assay potency} = (\text{Assay Purity}) \times (\text{Active Fraction}) \\ \times (1 - \text{Water Content})$$

Nilai *assay potency* yang telah diperoleh, selanjutnya dilakukan perhitungan nilai *weight* berdasarkan CLSI VET03 (2020) dengan rumus berikut ini.

$$\text{Weight} = \frac{\text{Volume (ml)} \times \text{Concentration (}\mu\text{g/mL)}}{\text{Assay Potency (}\mu\text{g /mL)}}$$

Serbuk antibiotik yang telah ditimbang pada jumlah yang telah dibutuhkan, dilarutkan ke dalam setengah volume dari total akuades yang dibutuhkan dan diaduk perlahan. NaOH steril 1 mol/L ditambahkan tetes demi tetes hingga serbuk antibiotik terlarut sempurna, kemudian ditambahkan akuades hingga mencapai volume yang diinginkan. Pembuatan larutan stok antibiotik pada konsentrasi yang akan digunakan dalam pengujian dilakukan pengenceran dengan rumus berikut ini.

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Keterangan:

M_1 = molaritas larutan sebelum diencerkan

V_1 = volume larutan sebelum diencerkan

M_2 = molaritas larutan setelah diencerkan

V_2 = volume larutan setelah diencerkan

3.6.2.2 Pengujian MIC

Pengujian diawali dengan disiapkan bakteri *V. parahaemolyticus* dan diambil 3-5 koloni berumur 18-24 jam yang telah dibiakkan pada media TSA + 2% NaCl. Kemudian disuspensikan ke dalam *test tube* yang berisikan 5 mL larutan

garam fisiologis lalu diukur nilai kekeruhan menggunakan densitometer hingga mencapai 0,5 McFarland ($1-2 \times 10^8$ CFU/mL). Selanjutnya dilanjutkan pengenceran terhadap suspensi tersebut hingga diperoleh kepadatan akhir dengan nilai 5×10^5 CFU/mL (5×10^4 CFU/well).

Pengujian MIC menggunakan *microplate* diatur dengan susunan: a) *well* 1 berisi suspensi bakteri *V. parahaemolyticus* dan antibiotik; b) *well* 2-11 berisi media, bakteri, dan antibiotik; dan c) *well* 12 berisi media dan bakteri sebagai kontrol positif. Langkah pertama dimasukkan media CAMHB pada *well* 2-12 sebanyak 50 μ L, kemudian dimasukkan antibiotik dengan konsentrasi 16 μ g/mL sebanyak 50 μ L pada *well* 1 dan 2 lalu dihomogenkan. Kemudian, dilakukan pengenceran berseri dengan mengambil sebanyak 50 μ L dari *well* 2, ditambahkan ke *well* 3, dan dihomogenkan. Cara yang sama diulangi hingga *well* 11. Setelah dihomogenkan pada *well* 11, diambil sebanyak 50 μ L lalu dibuang. Selanjutnya dimasukkan suspensi bakteri *V. parahaemolyticus* dengan kepadatan 5×10^5 CFU/mL sebanyak 50 μ L pada semua *well*. Volume akhir pada setiap *well* adalah 100 μ L dengan kepadatan bakteri akhir yakni 5×10^4 CFU/well. Konsentrasi akhir antibiotik pada setiap *well*, mulai dari *well* 1 hingga 11 berturut-turut adalah 8, 4, 2, 1, 0,5, 0,25, 0,12, 0,06, 0,03, 0,015, 0,008 μ g/mL. Selanjutnya, *microplate* diinkubasikan pada suhu 35°C selama 18-20 jam. Nilai daya hambat minimum diartikan sebagai konsentrasi terkecil dimana pertumbuhan bakteri terhambat dibandingkan dengan pertumbuhannya di *well* kontrol positif. Kriteria interpretatif untuk antibiotik *enrofloxacin* mengacu pada kriteria *ciprofloxacin*. Pengujian pada *E. coli* ATCC 25922 dilaksanakan pada setiap tahap pengujian sampel sebagai

kontrol kualitas pengujian daya hambat minimum. Hasil pengujian MIC diamati melalui standar kriteria pertumbuhan berdasarkan acuan CLSI M45 (2015) pada tabel 5 di bawah ini.

Tabel 5. Standar Karakteristik Pertumbuhan MIC pada Agen Antimikroba

Agen Antimikroba	Disc Content	MIC ($\mu\text{g/mL}$) Kriteria Interpretatif		
		S	I	R
<i>Enrofloxacin</i>	5 μg	≤ 1	2	≥ 4

Keterangan: S: *Susceptible*; I: *Intermediate*; R: *Resistance*

3.7 Pengujian Genotipe Deteksi Gen Penyandi Resistansi

3.7.1 Ekstraksi *Boiling*

Tahapan ekstraksi DNA bakteri *V. parahaemolyticus* dilaksanakan melalui ekstraksi *boiling* dengan modifikasi (Mulya, 2022). Koloni bakteri *V. parahaemolyticus* yang telah dibiakkan pada media TSA dan sudah berumur 24 jam, kemudian dipindahkan ke dalam mikrotube yang berisikan larutan NFW sebanyak 50 μl . Setelah itu suspensi dihomogenkan dengan *mini mixer* dan dilakukan ekstraksi *boiling* pada suhu 100°C selama 10 menit dengan meletakkan tabung berisi suspensi pada alat *heating block*. Setiap 3 menit sampel dihomogenkan. Selanjutnya, suspensi yang telah selesai dipanaskan, dibiarkan selama 2-3 menit pada suhu ruang. Suspensi kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 x g selama 5 menit. Supernatan dipindahkan ke mikrotube baru untuk dapat digunakan sebagai *template* DNA bakteri atau *master stock*.

3.7.2 Pengukuran Kualitas DNA

Sebanyak 42 *template* DNA yang telah diperoleh diukur menggunakan *microplate spectrophotometer* pada rasio absorbansi 260/280 nm. Rentang keberterimaan kemurnian DNA berkisar antara 1,8-2,0 (Dewanata, 2021). Pengukuran kualitas *template* DNA dilakukan dengan membersihkan sumuran *plate* menggunakan tisu lensa dan akuabides. Lalu, dimasukkan sebanyak masing-masing 2 μ l larutan NFW sebagai blanko dan *template* DNA bakteri yang telah diekstraksi ke dalam *plate*. Lalu *plate* dimasukkan ke alat *microplate spectrophotometer* untuk diukur kualitas DNA.

3.7.3 Deteksi Gen Penyandi Resistansi Antibiotik

Gen penyandi resistansi antibiotik golongan fluorokuinolon yang dideteksi adalah gen *gyrA*, *gyrB*, dan *parC*. Komposisi *master mix* dan primer untuk setiap reaksi PCR dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Komposisi Reagen *Master Mix* PCR Deteksi Gen Penyandi Resistansi

No.	Reagen <i>master mix</i> PCR	Volume
1.	<i>Go Taq Green Master Mix</i> 2x	12,5 μ l
2.	Primer <i>Forward</i> (F), 10 μ M	1,25 μ l
3.	Primer <i>Reverse</i> (R), 10 μ M	1,25 μ l
4.	<i>Nuclease Free Water</i> (NFW)	8 μ l
5.	<i>Template</i> DNA	2 μ l
Total		25 μ l

3.7.4 Amplifikasi PCR

Proses amplifikasi dilakukan menggunakan PCR *thermal cyclers* dengan volume total PCR *mixture* sebanyak 25 µl setiap reaksinya. Tahapan PCR diawali dengan proses predenaturasi pada suhu 95°C selama 2 menit, dilanjutkan dengan 35 siklus proses denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, proses *annealing* dengan suhu yang disesuaikan pada tabel 7, dilanjutkan proses ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit. Tahap akhir PCR adalah proses ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 10 menit. Hasil analisis (pembacaan/visualisasi) PCR menggunakan metode elektroforesis gel dengan gel *agarose* 2%. Hasil tersebut dapat diamati melalui proses *scanning* pada alat *gel scanner*.

Tabel 7. Target Gen dan Primer Deteksi Gen Penyandi Resistansi Antibiotik

Gen	Sekuen Basa Primer	Amplikon (bp)	Kondisi <i>Annealing</i>	Referensi
<i>gyrA</i>	(F) 5'-CAGTACACCGCCGCGTTTTATTC-3' (R) 5'-AGGTTATGTGGCGGGATGTTGGT-3'	433	60°C 1 menit	Nawaz, 2015
<i>gyrB</i>	(F) 5'-GTAAAGCGCGTGAAATGACTCGT-3' (R) 5'-GTACTGCTCTTGTTTGCCCTTCTT-3'	479	60°C 1 menit	Nawaz, 2015
<i>parC</i>	(F) 5'-GGACCGTGCAATTGCCATACATT-3' (R) 5'-CGATACCCGTTACGCCATTCAA-3'	437	60°C 1 menit	Nawaz, 2015

Keterangan: bp: *base pairs*

3.8 Proses Elektroforesis Gel *Agarose*

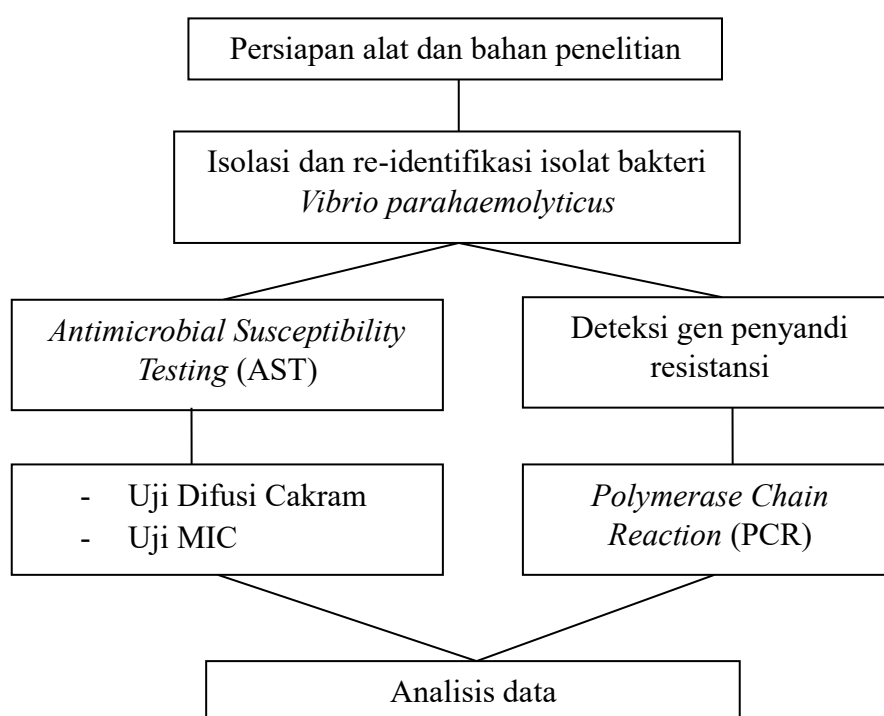
Analisis hasil PCR diamati melalui teknik elektroforesis gel *agarose* 2%, masing-masing sumuran diisi dengan kontrol negatif, sampel, dan *marker DNA ladder*. Proses elektroforesis gel dijalankan selama 25 menit pada tegangan 100 V. *Agarose* yang telah dielektroforesis direndam dalam akuades selama 5 menit untuk membas dan menghentikan hasil pewarnaan.

Pembacaan pita yang terbentuk pada gel agorosa dilakukan menggunakan gel *scanner*.

3.9 Analisis Data

Analisis data secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan grafik menggunakan Microsoft Office dan Microsoft Excel untuk menampilkan hasil pengujian resistansi dan penyandi gen resistansi antibiotik *enrofloxacin* dan *ciprofloxacin* yang terdapat pada isolat bakteri *V. parahaemolyticus*.

3.10 Diagram Alir Penelitian



V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

1. Seluruh isolat *V. parahaemolyticus* yang berasal dari udang vaname dan air budi daya tidak terdeteksi adanya resistansi terhadap antibiotik *ciprofloxacin* dan *enrofloxacin*. Hasil uji difusi cakram menunjukkan nilai diameter zona hambat berada pada rentang 22,5-41 mm untuk *ciprofloxacin* dan 24–41 mm untuk *enrofloxacin* yang sesuai dengan kategori sensitif berdasarkan standar CLSI. Uji MIC menghasilkan rentang nilai sebesar 0,008-0,25 µg/mL yang juga termasuk kategori sensitif untuk antibiotik *enrofloxacin*.
2. Gen *gyrA* dan *gyrB* terdeteksi pada 42 isolat, sedangkan gen *parC* hanya terdeteksi pada 40 isolat. Gen-gen tersebut terdeteksi pada isolat bakteri *V. parahaemolyticus* yang secara fenotipe menunjukkan hasil sensitif terhadap *ciprofloxacin* dan *enrofloxacin*.
3. Gen *parC* tidak terdeteksi pada dua kode sampel AP/1507/VIII/24 dan U/13/VII/18 yang dapat diindikasikan ketidakcocokan sekuens primer *parC* atau primer yang digunakan tidak optimal. Selain itu, *silent mutation* dapat menjadi penyebab tidak terdeteksinya gen karena menyebabkan kegagalan amplifikasi tanpa adanya perubahan fenotipe.

5.2 Saran

Analisis lanjutan untuk penelitian berikutnya diperlukan pengujian sekuensing gen untuk membuktikan ada atau tidaknya mutasi pada daerah *Quinolone Resistance Determining Region* (QRDR).

DAFTAR PUSTAKA

- Aarestrup, F. M. 2005. Veterinary Drug Usage and Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*. 96(4): 271–281.
- Abraham, D. J. 2003. *Quinolone, in Burger's Medicinal Chemistry Drug Discovery*, p. 582-587, John Wiley and Sons, Hoboken, New Jersey.
- Aditya, R., Kestriani, N. D., dan Maskoen, T. T. 2016. Antibiotik Empirik di Intensive Care Unit (ICU). *Jurnal Anesthesia & Critical Care*. 34(1): 48-56.
- Al-Othrub, S. M. Y., Kqueen, C. Y., Mirhosseini, H., Hadi, Y. A., and Radu, S. 2014. Antibiotic resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from cockles and shrimp sea food marketed in Selangor, Malaysia. *Clin Microbiol*. 3(3): 148.
- Aldina, D. R., Husain, M. H., Aini, R. D. R., Salamah, F. Z., dan Faisal, F. 2023. Uji Hambatan Bakteri *Escherichia coli*. *Era Sains: Jurnal Penelitian Sains, Keteknik dan Informatika*: 1(4): 1-7.
- Alwy, F. 2017. Indonesian Fisheries Policy Reform: Compliance with Stringent Food Safety Requirement of Importing Countries B. Discussion. *Fiat Justisia Jurnal Ilmu Hukum*. 11(2): 150–172.
- Ambat, K. N., Abida, I. W., dan Maherlina, R. 2022. Kelimpahan Bakteri *Vibrio* sp. pada Sampel Air Tambak di UPT Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan Pasuruan Jawa Timur. *Juvenil: Jurnal Ilmiah Kelautan dan Perikanan*. 3(3). 66–72.
- American Society for Clinical Pathology. (n.d.). 2025. Disk diffusion [Internet]. Microbiology MLS Review. <https://microbiology.mlsascp.com/disk-diffusion.html>. Diakses pada 02 Juni 2025.
- Anggita, D. S., Nuraisyah., dan Wiriansya, E. P. 2022. Mekanisme Kerja Antibiotik: Review Article. *UMI Medical Journal*. 7(1): 46–58.

- Artati., Hurustiatty., dan Zulfiana. A. (2016). Pola Resistensi Bakteri *Staphylococcus* sp Terhadap 5 Jenis Antibiotik Pada Sampel Pus. *Media Kesehatan Politeknik Kesehatan Makassar*, Vol. XI, No. 2.
- Austin, B. 2010. Vibrios as causal agents of zoonoses. *Veterinary Microbiology*. 140(3–4): 310–317.
- Aziza, R. N., dan Chaidir, R. R. A. 2024. Isolasi Bakteri *Vibrio* Sp. Resistensi Antibiotik pada Sampel Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) dari Pasar Seketeng. *BIOMARAS: Journal of Life Science and Technology*. 2(1): 26-35.
- Barnes, M. H., LaMarr, W. A., and Foster, K. A. 2003. DNA Gyrase and DNA Topoisomerase of *Bacillus subtilis*: Expression and Characterization of Recombinant Enzymes Encoded by the *gyrA*, *gyrB* and *parC*, *ParE* Genes. *Protein expression and purification*. 29(2): 259-264.
- Bbosa, G. S., Mwebaza, N., Odda, J., Kyegombe, D. B., and Ntale, M. 2014. Antibiotics/Antibacterial Drug Use, Their Marketing and Promotion during The Post-Antibiotic Golden Age and Their Role in Emergence of Bacterial Resistance. *Health*. 6(5): 410-425.
- Beshiru, A., Okareh, O. T., Okoh, A. I., and Igbinosa, E. 2020. Detection of Antibiotic Resistance and Virulence Genes of *Vibrio* Strains Isolated from Ready to Eat Shrimps in Delta and Edo States, Nigeria. *J Appl Microbiol*. 129:17-36.
- Thi, Q. V. C., Trung, N. B., & Dung, T. T. (2025). The antibiotic resistance of *Vibrio parahaemolyticus* originated from intensively farmed white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Ben Tre and Soc Trang provinces of the Mekong Delta, Vietnam: <https://doi.org/10.12982/VIS.2025.024>. *Veterinary Integrative Sciences*, 23(1), 1-14.
- Chen, S. Y., Jane, W. N., Chen, Y. S., and Wong, H. C. 2009. Morphological changes of *Vibrio parahaemolyticus* under cold and starvation stresses. *International journal of food microbiology*. 129(2): 157-165.
- 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 Microbiology*. 50: 216–220.
- CLSI. 2015. *Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria*. 3rd ed. CLSI guideline M45. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CLSI. 2020. *Methods for Antimicrobial Broth Dilution and Disk Diffusion Susceptibility Testing of Bacteria Isolated from Aquatic Animals*. 2nd ed.

CLSI guideline VET03. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

- Correia, S., Poeta P., and Hebraud, M., et al. 2017. Mechanisms of Quinolone Action and Resistance: Where Do We Stand. *J Med Microbiol.* 66: 551–9.
- Croci, L. E., Suffredini, L., Cozzi, L., Toti, D., Ottaviani, C., Pruzzo, P., Serratore, R., Fischetti, E., Goffredo, G., Loffredo, R., Mioni., and the Vibrio parahaemolyticus Working Group. 2007. Comparison of different biochemical and molecular methods for the identification of *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Applied Microbiology.* 102(1): 229–237.
- Dadgostar, P. 2019. Antimicrobial Resistance: Implications and Costs. *Infection and Drug Resistance.* 12: 3903–3910.
- Deekshit, V. K., and Srikumar, S. 2022. "To be, or not to be"—The Dilemma of 'Silent' Antimicrobial Resistance. *Journal of Applied Microbiology.* 133(5): 2902–2914.
- Dewanata, P. A., and Mushlih, M. 2021. Differences in DNA Purity Test Using UV-Vis Spectrophotometer and Nanodrop Spectrophotometer in Type 2 Diabetes mellitus Patients. *Indonesian Journal of Innovation Studies.* 15. 10-21070.
- Drlica, K., and Zhao, X. 1997. DNA Gyrase, Topoisomerase IV, and the 4-Quinolones. *Microbiology and molecular biology reviews.* 61(3): 377-392.
- Drlica, K., Malik, M., Kerns, R. J., and Zhao, X. 2008. Quinolone-Mediated Bacterial Death. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 52(2): 385-392.
- Dwary, A. F. F., Faisal., dan Risandiansyah, R. 2020. Efek Penambahan Fraksi Semi-Polar (F20-F26) Ekstrak Metanolik Tapak Liman terhadap Daya Hambat Amoksisilin atau Kloramfenikol Pada *Staphylococcus aureus* atau *Escherichia coli*. *J. Bio Komplementer Med.* 7(1): 1–10.
- Ebert, I., Bachmann, J., Kühnen, U., Küster, A., Kussatz, C., Maletzki, D., and Schlüter, C. 2011. Toxicity of the Fluoroquinolone Antibiotics Enrofloxacin and Ciprofloxacin to Photoautotrophic Aquatic Organisms. *Environmental toxicology and chemistry.* 30(12): 2786-2792.
- Elmahdi, S., Dasilva, L. V., and Parveen, S. 2016. Antibiotic resistance of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in various countries: A review. *Food Microbiology* 57: 128–134.
- European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR). 2009. Joint Opinion on Antimicrobial Resistance focused on zoonotic infections. *EFSA Journal.* 7(11): 1372.

- Fadia, F., Nurlailah, N., Helmiah, T. E., dan Lutpiatina, L. 2020. Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena Odorata* L.) sebagai Antibakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal riset kefarmasian Indonesia*. 2(3): 158-168.
- Farionita, I. M., Aji, J. M. M., dan Supriono, A. 2018. Analisis Komparatif Usaha Budi daya Udang Vaname Tambak Tradisional dengan Tambak Intensif di Kabupaten Situbondo. *Jurnal Ekonomi Pertanian dan Agribisnis*. 2(4): 255-266.
- Fendjalang., Budiardi, S. N. M., Supriyono, T., dan Eddy. 2016. Kinerja Produksi dan Fisiologis Udang Vaname *Litopenaeus vannamei* pada Karamba Jaring Apung dengan Padat Tebar Berbeda di Selat Kepulauan Seribu.
- Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., dan Fitri, A. S. 2019. Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*. 16(2): 101-108.
- Forslund, K., Sunagawa, S., Coelho, L.P., and Bork, P. 2014. Metagenomic Insights into The Human Gut Resistome and The Forces that Shape It. *Bioessays*. 36: 316-329.
- Founou, R. C., Founou, L. L., and Essack, S. Y. 2017. Clinical and Economic Impact of Antibiotic Resistance in Developing Countries: A Systematic Review and Meta Analysis. *PLoS One*. 12: e0189621.
- Gallagher, C.J., and MacCougall, C. 2018. Antibiotics Simplified Fourth Edition University of California. *USA: Jones Bartlett Learning*. 106–8.
- Ganiswara, S. G. 1995. *Farmakologi dan Terapi 4th ed*. Balai Penerbit FKUI: Jakarta.
- Gardès, J., Croce, O., Christen, R. 2012. In silico analyses of primers used to detect the pathogenicity genes of *Vibrio cholerae*. *Microbes Environ*. 27(3): 250-6.
- Green, M. R., and Sambrook, J. 2019. *Agarose Gel Electrophoresis*. Cold Spring Harbor Protocols Laboratory Press: Birmingham.
- Hadiwinata, B., Sabariyah, N., Aulia, D., dan Ritonga, R. A. *Vibrio parahaemolyticus pada Produk Perikanan dan Akuakultur*. Arjuna Indonesia Mendunia: Bekasi.
- Haliman, R. W., dan Adijaya, D. S. 2005. *Pembudi dayaan Dan Prospek Pasar Udang Putih Yang Tahan Penyakit Udang Vannamei*. Penebar Swadaya: Jakarta.

- Handoyo dan Rudiretra, A. 2000. Prinsip Umum dan Pelaksanaan *Polymerasi Chain Reaction (PCR)*. *Unitas*. 9(1)
- Hauser A. 2018. *Antibiotic Basics for Clinicians*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Hazimah, K. W., Priastomo, M., dan Rusli, R. 2019. Analisis Efektivitas Biaya Penggunaan Antibiotik pada Pasien Demam Tifoid di RS SMC Periode 2017. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2(2).
- Henderson, T. 2025. *Breaking Down the Basics of Microbial Identification: Phenotypic vs. Genotypic Methods*.
https://contractlaboratory.com/breaking-down-the-basics-of-microbial-identification-phenotypic-vs-genotypic-methods/?utm_source=chatgpt.com. Diakses pada 10 Juli 2025.
- HiMedia Laboratories. (n.d.). *HiCrome™ Vibrio Agar (M1682)*.
<https://www.himedialabs.com/TD/M1682.pdf>. Diakses pada 14 Juli 2025.
- Hidayat, M. 2020. *Penelitian Biomedik dan Ilmu Kedokteran*. Alfabeta: Bandung.
- Holmes, A. H., Moore, L. S. P., Sundsfjord, A., Steinbakk, M., Regmi, S., Karkey, A., Guerin, P. J., and Piddock, L. J. V. 2016. Understanding the Mechanisms and Drivers of Antimicrobial Resistance. *The Lancet*. 387(10014): 176–187.
- Hooper, D.C. 2000. Mechanisms of Action and Resistance of Older and Newer Fluoroquinolones. *Clin. Infect. Dis.* 31, S24–S28.
- Hooper, D. C., and Jacoby, G. A. 2015. Mechanisms of Drug Resistance: Quinolone Resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1354(1): 12–31.
- Humphries, R. M., Kircher, S., Ferrell, A., Krause, K. M., Malherbe, R., Hsiung, A., Burnham, C. A. D. 2018. The Continued Value of Disk Diffusion for Assessing Antimicrobial Susceptibility in Clinical Laboratories: Report from the Clinical and Laboratory Standards Institute Methods Development and Standardization Working Group. *Journal of Clinical Microbiology*. 56(8): 00437.
- Januarista, T. S. N. S., Solikha, L. Z. D. A. S., Putri, A. Fadila, dan F. Faisal. 2023 Kemampuan Mengecap Phenylthiocarbamide (PTC) dan distribusi Golongan Darah Sistem ABO pada Mahasiswa Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Malang Angkatan 2022. *J. Ilm. Mhs. Sains Unisma Malang*, 1(1): 22–27.
- Jay, J., Loessner, M., and Golden, D. 2005. Foodborne Gastroenteritis Caused by *Vibrio*, *Yersinia*, and *Campylobacter* Species.

- Karunasagar, I., Shivu, M. M., Girisha, S. K., and Krohne, G. 2007. Biocontrol of pathogens in shrimp hatcheries using bacteriophages. *Aquaculture*. 268 (1-4): 288–292.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2019. *Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan Nomor 1/PERMEN-KP/2019 tentang obat ikan*. Jakarta: Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Kherroubi, L., Bacon, J., and Rahman, K. M. 2024. Navigating Fluoroquinolone Resistance in Gram-negative Bacteria: A Comprehensive Evaluation. *JAC-Antimicrobial Resistance*. 6(4): dlae127.
- KKP, “KKP | Kementerian Kelautan dan Perikanan,”. 2020. [Online]. Available: <https://kkp.go.id/artikel/32431-laporan-tahunan-kkp-2020>. Diakses pada 25 Agustus 2024.
- Kusmarwati, A., Yenni, Y., dan 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.
- Kohanski, M. A., Dwyer D. J., and Collins J. J. 2010. How Antibiotics Kill Bacteria: from Target to Network. *Microbiology*. 8(1).
- Kowalska, D. J., Kazimierzczak, P. M., Sowińska, E. A., Wójcik, A. K., Siwicki, dan Dastych, J. 2020. Growing Trend of Fighting Infections in Aquaculture Environment Opportunities and Challenges of Phage Therapy. *Antibiotics*. 9(6): 301.
- Kotb, D. N., Mahdy, W. K., Mahmoud, M. S., and Khairy, R. M. 2019. Impact of Co-Existence of PMQR Genes and QRDR Mutations on Fluoroquinolones Resistance in Enterobacteriaceae Strains Isolated from Community and Hospital Acquired Utis. *BMC infectious diseases*. 19: 1-8.
- Lee, L. H., Ab-Mutalib, N. S., Law, J. W. F., Wong, S. H., and Letchumanan, V. 2018. Discovery on antibiotic resistance patterns of *Vibrio parahaemolyticus* in Selangor reveals carbapenemase producing *Vibrio parahaemolyticus* in Marine and freshwater fish. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2513.
- Lei T, Jiang F, He M, Zhang J, Zeng H, Chen M, Pang R, Wu S, Wei L, Wang J, Ding Y, Wu Q. 2020. Prevalence, virulence, antimicrobial resistance, and molecular characterization of fluoroquinolone resistance of *Vibrio parahaemolyticus* from different types of food samples in China. *Int J Food Microbiol*. 317:108461.

- Letchumanan, V., Chan, K. G., and Lee, L. H. 2014. *Vibrio parahaemolyticus*: a review on the pathogenesis, prevalence, and advance molecular identification techniques. *Frontiers in microbiology*. 5: 705.
- Letchumanan, V., Pusparajah, P., Tan, L. T. H., Yin, W. F., Lee, H. L., and Chan, K. G. 2015. Occurrence and Antibiotic Resistance of *V. parahaemolyticus* from Shellfish in Selangor, Malaysia. *Frontiers in Microbiology*. 6 (1417): 1-11.
- Letchumanan, V., Pusparajah, P., Tan, L. T. H., Yin, W. F., Lee, L. H., & Chan, K. G. 2016. Insights into bacteriophage application in controlling *Vibrio* species. *Frontiers in Microbiology*. 7: 1114.
- Lopatek, M., Wieczorek, K., and Osek, J. 2018. Antimicrobial Resistance, Virulence Factors, and Genetic Profiles of *Vibrio parahaemolyticus* from Seafood. *Appl. Environ. Microbiol.* 84: e00537-18.
- Makkasau, N., Fernandez, S., Apt, S. F., dan Apt, T. M. W. S. P. 2022. *Antibiotik dan Resistansi Antibiotik*. Rizmedia Pustaka Indonesia.
- Martinez, J. L. General Principles of Antibiotic Resistance in Bacteria. *Drug Discov Today*. 2014: 11:33–39.
- Mitchigan State University. 2011. *Antimicrobial Resistance Learning Site Pharmacology*. <http://amrls.cvm.msu.edu>. Diakses pada 29 April 2025.
- Moore J. E., and Millar B. C. 2020. The Day the Agar Stopped Working: What Emerging Antimicrobial Resistance (AMR) Means for Microbiology Laboratory Testing Potential Effects on Infectious Disease Reporting. *Clin Microbiol Infect.* 26(8):973–5.
- Mulya, M. A., Pasaribu, F. H., Afiff, U., and Yuhana, M. 2022. Characterization and Molecular Detection of Pathogenicity and Antibiotic Resistance Genes in *Vibrio parahaemolyticus* Isolated from Pacific White Shrimp. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 21(1): 81-92.
- Nawaz, M., Sung, K., Gokulan, K., Khare, S., Khan, S., Nawaz, S., Khan, A., and Steele, R. 2015. Mechanisms of Quinolone Resistance in *Vibrio parahemolyticus* Strains Isolated from Imported Shrimp. *Med Res Arch*. 3.
- Nathanian, I., Nainggolan, I. M., Yasmon, A., Nusatia, A. C. M., Tjoa, E., Gunardi, W. D., and Moehario, L. H. 2022. Hotspots Sequences of *gyrA*, *gyrB*, *parC*, and *parE* Genes Encoded for Fluoroquinolones Resistance from Local *Salmonella typhi* Strains in Jakarta. *BMC microbiology*. 22(1): 250.
- Nelapati, S., Nelapati, K., and Chinnam, B. K. 2012. *Vibrio parahaemolyticus* an emerging foodborne pathogen-A Review. *Vet. World* 5. 48–62. 48-63.

- Nisa, A. C., Jatayu, D., dan Abadi, R. F. 2023. Kinerja Produksi Budi daya Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Sistem Intensif di PT. Pendawa Senajaya Kabupaten Situbondo. *Buletin Jalanidhitah Sarva Jivitam*. 5(2): 139-147.
- Palupi, M. F., Khomariyah, S., Jannah Nurrohmani, A. M., dan Ariyani, N. 2023. Deteksi Gen Resistan Kuinolon *qnrA*, *qnrB*, dan *qnrS* pada *Escherichia coli* Patogen Resistan Kuinolon dari Ayam Petelur. *Jurnal Veteriner*, 24(1): 1-12.
- Papich, M. G. 2018. *Antimicrobial Fluoroquinolone drugs*.
<https://veteriankey.com/fluoroquinolone-antimicrobial-drugs>. Diakses pada Senin, 26 Mei 2025
- Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia. 2019. PERMEN KKP RI No. 1/PERMEN-KP/2019 Tentang Obat Ikan, hal. 1-151.
- Perry, J. D. 2017. A Decade of Development of Chromogenic Culture Media for Clinical Microbiology in An Era of Molecular Diagnostics. *Clinical microbiology reviews*. 30(2): 449-479.
- Pham, T. D. M., Ziora, Z. M., and Blaskovich, M. A. T. 2019. Quinolone Antibiotics. *Medchemcomm*. 10(10):1719–39.
- Prestinaci, F., Pezzotti, and P., Pantosti, A. 2015. Antimicrobial Resistance: A Global Multifaceted Phenomenon. *Pathog Glob Health*. 109(7):309–18.
- Prihanto, A. A., Nursyam, H., dan Kurniawan, A. 2021. *Probiotik Perikanan: Konsep, Metode, dan Aplikasi*. Universitas Brawijaya Press: Malang.
- Putri, R. N., Wahidah, S. N., Al Hafidz, I. T., dan Faisal, F. 2023. Uji Daya Hambat Antimikroba Secara Difusi Sumuran dan Difusi Paper Disk. *Era Sains: Jurnal Penelitian Sains, Teknik dan Informatika*. 1(4): 28-33.
- Qing, Y., Zou, Z., Jiang, G., Qin, L., Liu, K., and Liu, Z. 2024. A global perspective on the abundance, diversity and mobility of antibiotic resistance genes in *Escherichia coli*. *Frontiers in Veterinary Science*. 11(1442159).
- Ramadhaniah, V., Indrawati, A., dan Prasetyo, B. F. 2024. Uji Resistansi Antibiotik Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dari Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*) Serta Identifikasi Gen Penyandi Resistan Ampisilin. *Acta VETERINARIA Indonesiana*. 12(2): 97-105.
- Rahmadani, A. F., dan Faisal, F. 2023. Isolasi dan Identifikasi Awal Bakteri Patogen pada Kolam Maturasi dan Kolam Wetland IPLT Supit Urang Kota Malang, Univ. Islam Malang. 4(1): 88–100.

- Raini, M. 2016. Antibiotik Golongan Fluorokuinolon: Manfaat dan Kerugian. *Media Litbangkes*. 26(3): 164.
- Reygaert, W. C. 2018. An Overview of The Antimicrobial Resistance Mechanisms of Bacteria. *AIMS Microbiol*. 4(3): 482.
- Roberts, J. A., et al. 2014. Individualised antibiotic dosing for patients who are critically ill: Challenges and potential solutions. *The Lancet Infectious Diseases*. 14(6): 498–509.
- Rocha de santos, R., de Sousa, O. V., and 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.
- Rodrigues, de Melo, L. M., Almeida, D., Hofer, E., Falavina dos Reis, C. M., Theophilo, G. N. D., Santos, A. F. D. M., and 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: 1463- 1469.
- Schwarz, S., Silley, P., Simjee, S., Woodford, N., van Duijkeren, E., Johnson, A. P., and Gastra, W. 2010. Assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 65(4): 601-604.
- Sharma, P. C., Jain, A., and Jain, S. 2009. Fluoroquinolones Antibacterials: A Review on Chemistry, Microbiology and Therapeutic Prospects. *Acta Poloniae Pharmaceutica*. 66(6): 587 -604.
- Stasiak, M., Mackiw, E., Kowalska, J., Kucharek, J., and Postupolski, J. 2021. Silent genes: Antimicrobial resistance and antibiotic production. *Polish Journal of Microbiology*. 70(4):421-429.
- Sudheesh, P. S., and Xu, H. S. 2001. Pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* in Tiger Prawn *Penaeus Monodon* Fabricius: Possible Role of Extracellular Proteases. *Aquaculture*. (1-2): 37-46.
- Suyanto, R dan Mudjiman, A. 2001. *Budi daya Udang Windu*. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Thompson, F. L., Iida, T., and Swings, J. 2005. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 2: The Proteobacteria, Part B: The Gammaproteobacteria*. Springer.
- Tiam, L. B., Hwa, T. S., Mulyani, S., Widiyani, W., Asmawati, D., dan Fajarochwati, M. 2011. Deteksi Resistensi Fluorokuinolon di *Salmonella*

sp dengan Menggunakan Uji Kepekaan Asam Nalidiksat. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*. 18(1): 30-34.

Usman, S., Masriah, A., dan Jamaluddin, R. 2022. Pengaruh Padat Tebar terhadap Kelangsungan Hidup dan Pertumbuhan *Post-Larva* Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang Dipelihara pada Wadah. *Jornal of Marine and Fisheries*. 1(1): 21-32.

Utami, P. 2012. *Antibiotik Alami Untuk Mengatasi Aneka Penyakit*. AgroMedia: Jakarta.

Vandeputte, M., Coppens, S., Bossier, P., Vereecke, N., Vanrompay, D. 2025. Genomic mining of *Vibrio parahaemolyticus* highlights prevalence of antimicrobial resistance genes and new genetic markers associated with AHPND and *tdh* + */trh* + genotypes. *BMC Genomics*. 25(1):178.

Vázquez-Laslop N., and Mankin, A. S. 2018. How Macrolide Antibiotics Work. *Trends Biochem Sci*. 43(9): 668–84.

Vengadasamy, V., Tan, L. T. H., Law, J. W. F., Ser, H. L., Letchumanan, V., and Pusparajah, P. 2021. Incidence, antibiotic susceptibility and characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seafood in Selangor, Malaysia. *Progress In Microbes & Molecular Biology*. 4(1).

Ventola, L. C. 2015. Antibiotic Resistance Crisis. *Pharmacy and Therapeutics*. 40(4): 277–283.

Verraes, C., Van Boxtael, S., Van Meervenne, E., Van Coillie, E., Butaye, P., Catry, B., de Schaetzen, M. A., X. Van Huffel, H. Imberechts, K. Dierick, G. Daube, C. Saegerman, J. De Block, J. Dewulf, and L. Herman. 2013. Antimicrobial resistance in the food chain: A review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 10(7): 2643–2669.

Verraes, C., G. Vlaemynck, S. Van Weyenberg, L. De Zutter, G. Daube, M. Sindic, M. Uyttendaele, and L. Herman. 2015. A Review of the Microbiological Hazards of Dairy Products Made from Raw Milk. *International Dairy Journal*. 50:32–44.

Von Wintzingerode, F., et al. 1997. PCR-based Assays for The Detection of Rare and Silent Mutations. *Microbiological Reviews*: 61(4): 593–630.

Vranakis, I., I. Goniou, A. Psaroulaki, V. Sandalakis, Y. Tselentis, K. Gevaert, and G. Tsiotis. 2014. Proteome Studies of Bacterial Antibiotic Resistance Mechanisms. *Journal of Proteomics*. 97:88–99.

World Health Organization (WHO) 2014. *Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance*. <http://bit.ly/1rOb3cx>. Diakses pada 31 Agustus 2024.

- Wulandari, D. 2016. Teknik Amplifikasi Asam Nukleat. *Pendidikan Berkesinambungan Patologi Klinik*. Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Yudhana, A., Praja, R. N., dan Yunita, M. N. 2017. Deteksi Gen Resistensi Insektisida Organofosfat Pada *Aedes aegypti* di Banyuwangi, Jawa Timur Menggunakan *Polymerase Chain Reaction*. *Jurnal Veteriner*. 18(3): 446-452.
- Xie, Z.Y., Hu, C.Q., Chen, C., Zhang, L.P., and C.H. Ren. 2005. Investigation of Seven *Vibrio* Virulence Genes Among *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus* Strain from The Coastal Mariculture Systems in Guangdong, China. *Letters in Applied Microbiology*. 41: 202-207.
- Zhanel, G. G., DeCorby, M., Laing, N., Weshnoweski, B., Vercaigne, L., Walkty, A., Nichol, K., Wierzbowski, A., and Hoban, D. J. 2008. Antimicrobial-resistant pathogens in intensive care units in Canada: Results of the Canadian National Intensive Care Unit (CAN-ICU) study, 2005–2006. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 52(4): 1430–1437.
- Zhou, H., Liang, Y., Gao, L., Ren, J., Xue, F., Guo, D., Jiang, Y., Yang, Z., Lian, L., and Dai, J. 2019. Identification and expression analyses of new genes associated with ciprofloxacin resistance in *Vibrio parahaemolyticus*. *Food Research International*, 125, 108629.