

**KARAKTERISASI BAKTERI PATOGEN *Vibrio parahaemolyticus*
PADA BAWAL BINTANG (*Trachinotus blochii*): MORFOLOGI SEL,
UJI BIOKIMIA, DAN RESISTENSI TERHADAP SENYAWA
ANTIMIKROBA**

(Tesis)

Oleh

**RAKHMAT HADI SAPUTRA
2220041004**



**PROGRAM STUDI MAGISTER MANAJEMEN WILAYAH PESISIR DAN LAUT
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

KARAKTERISASI BAKTERI PATOGEN *Vibrio parahaemolyticus* PADA BAWAL BINTANG (*Trachinotus blochii*): MORFOLOGI SEL, UJI BIOKIMIA, DAN RESISTENSI TERHADAP SENYAWA ANTIMIKROBA

Oleh

RAKHMAT HADI SAPUTRA

Industri perikanan budi daya laut menghadapi tantangan besar dalam pengendalian penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen. Salah satu patogen yang sering menyerang ikan budi daya adalah *Vibrio parahaemolyticus*, yang dapat menyebabkan vibriosis pada ikan laut. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi bakteri patogen *Vibrio parahaemolyticus* (VP1, VP2, VP3, VP4, dan VP5) yang diisolasi dari ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*) dan menganalisis efektivitas senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Karakterisasi bakteri *V. parahaemolyticus* meliputi uji media selektif CHROMagar Vibrio (CV), konfirmasi gen *toxR* dengan metode PCR, aktivitas hemolitik pada medium blood agar plate (BAP) uji biokimia dengan metode API 20E, uji patogenisitas secara *in vivo* pada bawal bintang, dan uji sensitivitas terhadap antibiotik dan bahan antimikroba. Hasil penelitian menunjukkan bakteri *V. parahaemolyticus* tumbuh pada media CV dengan warna biru kemerahan, teramplifikasi gen *toxR*, hemolitik positif, morfologi koloni berwarna krem dengan tepi bergelombang, mampu memfermentasi beberapa karbohidrat, termasuk glukosa, mannitol, dan sukrosa. Uji patogenisitas *in vivo* pada ikan bawal bintang menunjukkan gejala klinis berupa lesu, peradangan pada sirip, dan perdarahan, yang menandakan bahwa *V. parahaemolyticus* merupakan patogen penyebab vibriosis pada ikan. Uji antibakteri menunjukkan bahwa *enrofloxacin* adalah antibiotik yang paling efektif, diikuti oleh *tetrasiklin* dan *oksitetrasiklin*. Ekstrak jintan hitam menunjukkan hasil yang lebih bervariasi, meskipun tetap menunjukkan potensi antibakteri alami. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan dasar yang lebih kuat untuk pengendalian vibriosis di perikanan budi daya serta mendorong pengembangan alternatif antibakteri alami.

Kata Kunci: Ikan Bawal Bintang, Karakterisasi Biokimia, Uji Antibakteri, *Vibrio parahaemolyticus*

ABSTRACT

CHARACTERIZATION OF THE PATHOGENIC BACTERIUM *Vibrio parahaemolyticus* IN SILVER POMPANO (*Trachinotus blochii*): CELL MORPHOLOGY, BIOCHEMICAL TESTS, AND RESISTANCE TO ANTIMICROBIAL COMPOUNDS

By

RAKHMAT HADI SAPUTRA

The marine aquaculture industry faces significant challenges in controlling diseases caused by pathogenic bacteria. One of the common pathogens affecting farmed fish is *Vibrio parahaemolyticus*, which can cause vibriosis in marine fish. This study aims to characterize the pathogenic bacterium *Vibrio parahaemolyticus* (VP1, VP2, VP3, VP4, and VP5) isolated from star pomfret (*Trachinotus blochii*) and to analyze the effectiveness of antibacterial compounds in inhibiting bacterial growth. The characterization of *V. parahaemolyticus* included selective culturing on CHROMagar Vibrio (CV), *toxR* gene confirmation using PCR, hemolytic activity testing on blood agar plate (BAP), biochemical identification via the API 20E method, *in vivo* pathogenicity testing on silver pompano, and sensitivity testing against antibiotics and antimicrobial substances. The results showed that *V. parahaemolyticus* produced reddish-purple colonies on CV, exhibited *toxR* gene amplification, and was hemolysis-positive. Colony morphology appeared cream-colored with undulate edges, and the bacterium was able to ferment several carbohydrates, including glucose, mannitol, and sucrose. *In vivo* pathogenicity tests revealed clinical symptoms such as lethargy, fin inflammation, and hemorrhaging, confirming *V. parahaemolyticus* as the causative pathogen of vibriosis in fish. Antibacterial testing indicated that enrofloxacin was the most effective antibiotic, followed by tetracycline and oxytetracycline. Black cumin (*Nigella sativa*) extract exhibited more variable results but still demonstrated potential as a natural antibacterial agent. This study is expected to provide a stronger foundation for the control of vibriosis in aquaculture and support the development of alternative natural antibacterial treatments.

Keywords: Antibacterial Testing, Biochemical Characterization, Silver pompano, *Vibrio parahaemolyticus*

**KARAKTERISASI BAKTERI PATOGEN *Vibrio parahaemolyticus*
PADA BAWAL BINTANG (*Trachinotus blochii*): MORFOLOGI
SEL, UJI BIOKIMIA, DAN RESISTENSI TERHADAP SENYAWA
ANTIMIKROBA**

Oleh

RAKHMAT HADI SAPUTRA

Tesis

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

Pada

**Program Studi Magister Wilayah Pesisir dan Laut
Program Pascasarjana Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI MAGISTER MANAJEMEN WILAYAH PESISIR DAN LAUT
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Tesis : **KARAKTERISASI BAKTERI PATOGEN
Vibrio parahaemolyticus PADA BAWAL
BINTANG (*Trachinotus blochii*):
MORFOLOGI SEL, UJI BIOKIMIA, DAN
RESISTENSI TERHADAP SENYAWA
ANTIMIKROBA**

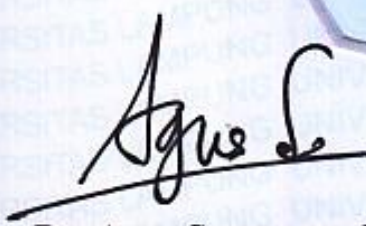
Nama Mahasiswa : **Rakhmat Hadi Saputra**

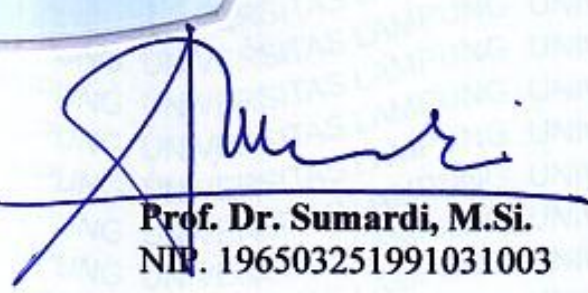
Nomor Induk Mahasiswa : **2220041004**

Program Studi : **Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut**

Fakultas : **Program Pascasarjana Multidisiplin**




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


Prof. Dr. Sumardi, M.Si.
NIP. 196503251991031003

**2. Koordinator Program Studi Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut
Universitas Lampung**


Dr. Nur Efendi, S.Sos., M.Si.
NIP. 196910121995121001

MENGESAHKAN

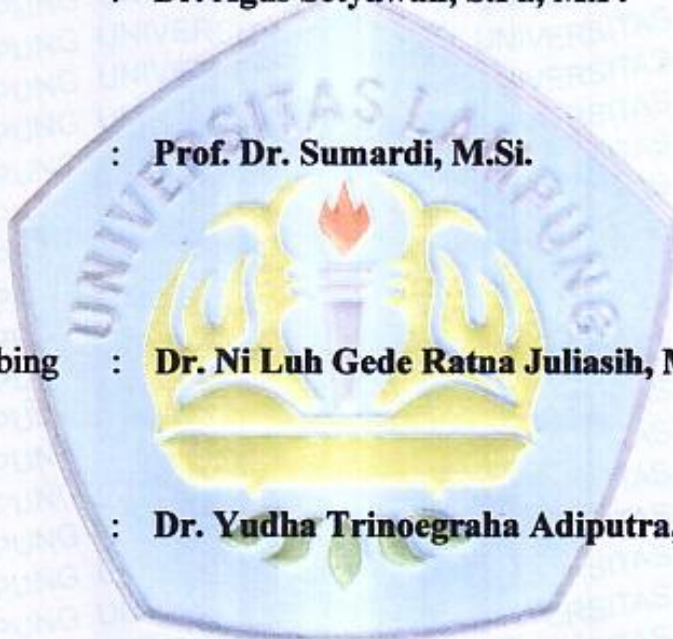
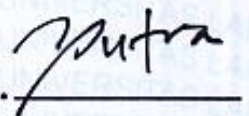
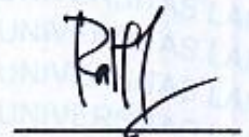
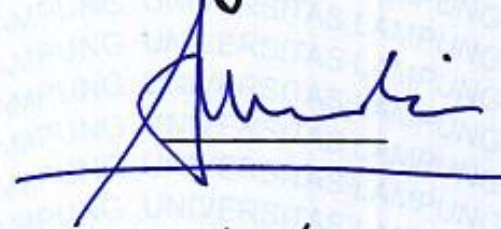
1. Tim Penguji

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

Sekretaris : Prof. Dr. Sumardi, M.Si.

Penguji
Bukan Pembimbing : Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si.

Anggota : Dr. Yudha Trinoegraha Adiputra, S.Pi., M.Si.



2. Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung



Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si.
NIP. 196403261989021001

Tanggal Lulus Ujian Tesis: 2 Juli 2025

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa:

1. Tesis dengan judul: " **KARAKTERISASI BAKTERI PATOGEN *Vibrio parahaemolyticus* PADA BAWAL BINTANG (*Trachinotus blochii*): MORFOLOGI SEL, UJI BIOKIMIA, DAN RESISTENSI TERHADAP SENYAWA ANTIMIKROBA** " adalah benar merupakan karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara yang tidak sesuai dengan etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak kekayaan intelektual atas karya ini saya serahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Apabila di kemudian hari ditemukan adanya ketidakbenaran dalam pernyataan ini, saya bersedia menerima segala bentuk sanksi yang diberikan kepada saya, serta bersedia dan sanggup untuk dituntut sesuai dengan hukum yang berlaku.

Bandar Lampung, 24 Juli 2025

Yang membuat pernyataan,



RAKHMAT HADI SAPUTRA

NPM 2220041004

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Rakhmat Hadi Saputra, lahir di Bandar Lampung pada 29 Juni 1988. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara, putra dari pasangan Sri Aprilno dan Suwati, yang berasal dari Kecamatan Natar, Kabupaten Lampung Selatan, Provinsi Lampung.

Pendidikan dasar ditempuh di SD Negeri 2 Rawa Laut (1994–2000), dilanjutkan di SLTP Negeri 16 Bandar Lampung (2000–2003), dan SMA Negeri 2 Kebumen, Jawa Tengah, hingga lulus pada 2006. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan studi di Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada (UGM). Selama kuliah, penulis aktif dalam berbagai kegiatan akademik dan praktik lapangan guna memperkuat keterampilan di bidang perikanan dan kelautan. Sebagai bentuk capaian akademik, penulis menyusun skripsi berjudul: “Pengaruh Pemberian Maggot *Hermetia illucens* terhadap Perkembangan Gonad Lele Dumbo (*Clarias* sp.)”, yang diselesaikan pada 2012.

Setelah memperoleh gelar sarjana, penulis melanjutkan pendidikan magister di Program Studi Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut (MWPL), Pascasarjana Universitas Lampung. Tesis berjudul: “Karakterisasi Bakteri Patogen

Vibrio parahaemolyticus Pada Bawal Bintang (*Trachinotus blochii*): Morfologi Sel, Uji Biokimia, Dan Resistensi Terhadap Senyawa Antimikroba” diselesaikan pada 2025.

Sejak 2015, penulis bekerja sebagai Pegawai Negeri Sipil (PNS) di Balai Besar Perikanan Budi Daya Laut (BBPBL) Lampung, unit pelaksana teknis Kementerian Kelautan dan Perikanan. Penulis bertugas di Laboratorium Penyakit Ikan, yang menangani pengujian mikrobiologi, pemantauan kesehatan ikan, dan pengendalian penyakit di lingkungan budidaya laut. Selain tugas laboratorium, penulis juga aktif membimbing mahasiswa dan siswa dalam kegiatan Praktik Kerja Lapangan (PKL), magang, dan penelitian sebagai bentuk kontribusi dalam pengembangan kapasitas SDM bidang perikanan dan kelautan. Penulis memiliki minat besar pada mikrobiologi perikanan, kesehatan ikan, dan pengelolaan wilayah pesisir berkelanjutan, serta terus berupaya mengembangkan kompetensi akademik dan profesional melalui riset, edukasi, dan pelayanan laboratorium untuk mendukung sektor kelautan dan perikanan Indonesia.

PERSEMBAHAN

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, nikmat, dan kemudahan yang telah diberikan sepanjang perjalanan hidup ini, hingga terselesaikannya karya ini.

Dengan penuh rasa hormat dan cinta, karya ini penulis persembahkan kepada: Ayah dan Ibu tercinta, atas kasih sayang, doa, dan pengorbanan yang tak pernah putus sejak awal kehidupan. Istri tercinta, yang selalu setia mendampingi, memberikan semangat, kesabaran, dan cinta dalam setiap langkah. Anak-anak tercinta, sumber harapan dan kebahagiaan, yang menjadi inspirasi untuk terus berjuang dan memberikan yang terbaik.

Kepada kalian, karya ini penulis hadiahkan sebagai wujud rasa terima kasih yang mendalam dan abadi.

&

Untuk almamater tercinta “UNIVERSITAS LAMPUNG”, tempat penulis belajar dan tumbuh menjadi insan yang lebih baik.

MOTTO HIDUP

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya.”

(Q.S Al-Baqarah: 286)

“Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan.”

(Q.S Al Insyirah: 6)

“Kesuksesan bukanlah milik orang pintar, tapi milik mereka yang gigih dan pantang menyerah.”

(B.J. Habibie)

“Kemajuan datang dari kebiasaan sederhana yang dilakukan secara konsisten.”

(James Clear)

“Jangan menunggu sempurna untuk memulai, karena setiap langkah kecil adalah bagian dari perjalanan besar.”

(Anonim)

“Ilmu yang bermanfaat adalah amal yang tak pernah berhenti. Maka teruslah belajar dan berbagi, sekecil apa pun kontribusimu.”

(RHS)

SANWACANA

Segala puji bagi Allah Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas limpahan rahmat, nikmat, dan karunia-Nya yang telah memberikan kesehatan, kekuatan, serta kemudahan sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir tesis yang berjudul: “Karakterisasi Bakteri Patogen *Vibrio parahaemolyticus* pada Bawal Bintang (*Trachinotus blochii*): Morfologi Sel, Uji Biokimia, Dan Resistensi Terhadap Senyawa Antimikroba”, sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister dalam Program Studi Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut, Pascasarjana Universitas Lampung.

Proses penyusunan tesis ini telah dilalui dengan dukungan moril dan materil dari berbagai pihak yang berperan penting dalam pencapaian ini. Ucapan terima kasih yang paling dalam penulis sampaikan kepada kedua orang tua tercinta, Bapak Sri Aprilno dan Ibu Suwati, atas doa, kasih sayang, dan pengorbanan yang tiada henti. Penulis juga menyampaikan terima kasih dan cinta yang sebesar-besarnya kepada istri tercinta, Nurul Hidayah, serta kedua anak penulis, Ranu Planta Saputra dan Saejiwa Raga Saputra, yang telah menjadi sumber semangat dan inspirasi dalam menyelesaikan setiap tahapan pendidikan ini.

Selanjutnya, dengan penuh rasa hormat dan penghargaan, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si., selaku Direktur Pascasarjana Universitas Lampung.
2. Dr. Nur Efendi, S.Sos., M.Si., selaku Ketua Program Studi Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut Universitas Lampung.

3. Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P., selaku Pembimbing Utama yang telah membimbing dengan sabar, memberikan ilmu, arahan, serta masukan yang sangat berharga hingga tersusunnya tesis ini.
4. Prof. Dr. Sumardi, M.Si., selaku Pembimbing Anggota yang telah memberikan saran, kritik, dan dukungan dalam penyusunan tesis ini.
5. Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si., selaku Dosen Penguji Utama yang telah memberikan kritik dan masukan yang membangun dalam proses ujian.
6. Dr. Yudha Trinoegraha Adiputra, S.Pi., M.Si., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan arahan dan saran yang sangat berarti untuk penyempurnaan tesis ini.
7. Seluruh dosen dan staf Program Studi Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut Universitas Lampung atas ilmu, dedikasi, dan bantuan yang telah diberikan selama masa studi.
8. Rekan-rekan MWPL 2022, atas kebersamaan, tawa, dan dukungan selama proses perkuliahan hingga penyusunan tesis ini.

Semoga Allah membalas segala kebaikan dan ketulusan semua pihak yang telah membantu penulis. Penulis menyadari bahwa karya ini masih jauh dari sempurna, namun besar harapan penulis agar karya ini bermanfaat dan dapat menambah wawasan keilmuan di bidang perikanan dan pengelolaan wilayah pesisir.

Bandar Lampung, Juli 2025

Penulis,

Rakhmat Hadi Saputra

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR ISTILAH	xix
DAFTAR SINGKATAN.....	xxi
 I. PENDAHULUAN.....	 1
1.1.Latar belakang.....	1
1.2.Rumusan Masalah	6
1.3.Tujuan	6
1.4.Manfaat	6
1.5.Kerangka Pikir	7
 II. TINJAUAN PUSTAKA.....	 8
2.1.Bawal Bintang (<i>Trachinotus blochii</i>).....	8
2.2. <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	11
2.3.Karakterisasi biokimia	13
2.4.Uji Antibakteri	18
 III.METODOLOGI	 21
3.1.Waktu dan Tempat	21
3.2.Alat dan Bahan.....	21
3.3.Prosedur Penelitian.....	22
3.3.1. Isolasi <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dengan CHROMagar <i>Vibrio</i>	22
3.3.2. Penapisan <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	23

3.3.3. Karakterisasi bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> secara <i>In Vitro</i>	23
3.3.4. Patogenesis <i>Vibrio parahaemolyticus</i> secara <i>In Vivo</i>	26
3.3.5. Uji Antibakteri	32
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	36
4.1. Peremajaan Isolat Bakteri	36
4.2. Penapisan <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dengan Blood Agar Plate	37
4.3. Isolasi <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dengan CHROMagar <i>Vibrio</i>	41
4.4. Konfirmasi <i>Vibrio parahaemolyticus</i> menggunakan metode PCR	45
4.5. Karakterisasi bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> secara <i>In Vitro</i>	49
4.5.1. Karakterisasi morfologi <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	49
4.5.2. Karakterisasi biokimia <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dengan Metode <i>Analytical Profile Index</i> (API)	52
4.6. Patogenesis <i>Vibrio parahaemolyticus</i> secara <i>In Vivo</i>	56
4.7. Uji Antibakteri	65
4.8. Relevansi Penelitian terhadap Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut	70
V. SIMPULAN DAN SARAN	75
5.1. Simpulan	75
5.1.1. Karakterisasi <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	75
5.1.2. Efektivitas Antibakteri	75
5.2. Saran	75
DAFTAR PUSTAKA	76
LAMPIRAN	92

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tes Biokimia dan Reaksi Substrat pada API 20E	17
2. Alat-Alat Penelitian	21
3. Bahan-Bahan Penelitian	22
4. Komposisi Larutan McFarland dan Perkiraan Konsentrasi Bakteri (CFU/mL)	29
5. Karakterisasi Morfologi Koloni Isolat <i>V. parahaemolyticus</i>	49
6. Konsentrasi Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i> Berdasarkan Pembacaan Spektrofotometer	56
7. Rancangan Perlakuan Konsentrasi Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i> pada Uji In Vivo	57
8. Waktu Kematian Rata-rata Berdasarkan Konsentrasi Bakteri pada Isolat <i>V. parahaemolyticus</i>	61
9. Nilai LD ₅₀ (CFU/mL) tiga isolat <i>V. parahaemolyticus</i> terhadap Ikan Uji	64
10. Interpretasi Hasil Uji Antibiotik terhadap Isolat <i>V. parahaemolyticus</i>	66
11. Interpretasi Zona Hambat Antibiotik terhadap <i>V. parahaemolyticus</i>	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka Pikir Penelitian.....	7
2. Kurva pertumbuhan bakteri secara umum	13
3. Zona hemolisis yang terbentuk di sekitar koloni <i>V. parahaemolyticus</i> pada media Blood Agar Plate (BAP).....	39
4. Pertumbuhan Koloni <i>V. parahaemolyticus</i> pada CHROMagar Vibrio	44
5. Hasil elektroforesis gel agarosa untuk konfirmasi <i>V. parahaemolyticus</i>	46
6. Contoh ikan uji hasil perlakuan inokulasi in vivo dan koloni bakteri hasil re-isolasi pada media TSA.....	64

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran	
1. Ilustrasi morfologi koloni bakteri yang meliputi bentuk, margin, dan elevasi koloni	92
2. Morfologi koloni bakteri yang menunjukkan variasi warna dan bentuk koloni.....	93
3. Desain unit pemeliharaan ikan pada uji patogenisitas in vivo	94
4. Pelaksanaan uji patogenisitas in vivo pada ikan bawal bintang.....	95
5. Dokumentasi ikan bawal bintang pada perlakuan uji patogenisitas in vivo.....	96
6. Hasil Uji Karakterisasi Biokimia <i>V. parahaemolyticus</i> dengan API 20E	97
7. Dokumentasi uji biokimia menggunakan API 20E untuk identifikasi <i>V. parahaemolyticus</i>	98
8. Dokumentasi uji dan hasil identifikasi biokimia dengan API 20E terhadap Isolat <i>V. parahaemolyticus</i>	99

DAFTAR ISTILAH

API 20E	: Kit diagnostik biokimia berbasis strip untuk identifikasi bakteri Gram negatif.
Blood Agar Plate	: Media kultur mengandung darah, digunakan untuk mendeteksi aktivitas hemolitik bakteri.
Autoklaf	: Alat untuk sterilisasi menggunakan uap panas bertekanan tinggi.
CHROMagar Vibrio	: Media selektif diferensial untuk isolasi presumtif <i>Vibrio</i> spp. dengan warna koloni berbeda.
Antibiotic disc	: Kertas cakram berisi antibiotik untuk uji kepekaan bakteri.
Disk diffusion	: Metode uji sensitivitas antibakteri berdasarkan zona hambat di sekitar cakram antibiotik.
Enrofloxacin	: Antibiotik golongan fluoroquinolone yang menghambat sintesis DNA bakteri.
Hemolisin	: Toksin bakteri yang merusak sel darah merah (eritrosit).
Hemoragi	: Perdarahan; gejala klinis berupa keluarnya darah pada jaringan atau organ.
Inokulasi	: Proses memasukkan mikroorganisme ke medium atau organisme uji.
Isolat	: Kultur murni dari mikroorganisme yang berhasil dipisahkan dari sampel.
Laminar air flow	: Meja kerja steril dengan aliran udara laminar untuk mencegah kontaminasi.
LD ₅₀	: Dosis yang menyebabkan kematian 50% populasi hewan uji.
McFarland Standard	: Standar kekeruhan suspensi bakteri untuk menyamakan konsentrasi sel.
Media TSA	: Media padat umum untuk kultur bakteri.
Media TSB	: Media cair kaya nutrisi untuk pertumbuhan bakteri.
Mikropipet	: Alat laboratorium untuk memindahkan cairan

	dalam volume mikro (μL) dengan presisi.
Motil	: Kemampuan sel bakteri untuk bergerak aktif, biasanya dengan flagela.
Patogenisitas	: Kemampuan mikroorganisme untuk menyebabkan penyakit.
PCR	: Teknik molekuler untuk amplifikasi DNA secara cepat dan spesifik.
Postulat Koch	: Empat kriteria untuk membuktikan mikroorganisme sebagai penyebab penyakit.
Suspensi bakteri	: Larutan homogen yang mengandung sel bakteri hidup.
Thymoquinone	: Senyawa aktif utama dalam <i>Nigella sativa</i> yang memiliki aktivitas antibakteri.
Virulensi	: Derajat keparahan suatu patogen dalam menimbulkan penyakit.

DAFTAR SINGKATAN

API	:	Analytical Profile Index
BAP	:	Blood Agar Plate
BBPBL	:	Balai Besar Perikanan Budidaya Laut
CFU	:	Colony Forming Unit
CV	:	CHROMagar Vibrio
DNA	:	Deoxyribonucleic Acid
LD ₅₀	:	Lethal Dose 50
MHA	:	Mueller-Hinton Agar
MIC	:	Minimum Inhibitory Concentration
NaCl	:	Sodium Chloride
OD	:	Optical Density
PCR	:	Polymerase Chain Reaction
RWK	:	Rerata Waktu Kematian
TSA	:	Tryptic Soy Agar
TSB	:	Tryptic Soy Broth
VP	:	Voges-Proskauer

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*) merupakan salah satu komoditas unggulan dalam budi daya perikanan laut. Harga jual ikan bawal bintang ukuran konsumsi relatif tinggi dan stabil, sehingga memberikan keuntungan yang menjanjikan bagi pembudidaya. Studi oleh Silvia *et al.* (2024) menunjukkan bahwa teknik pembenihan ikan ini di BBPBL Lampung berhasil dengan tingkat keberhasilan yang tinggi, mendukung kelayakan usaha budi daya. Selain itu, penelitian oleh Suresh-Babu *et al.* (2023) mengungkapkan bahwa ikan bawal bintang dapat mencapai pertumbuhan optimal dan memberikan keuntungan ekonomi yang signifikan setelah fase pemulihan.

Budi daya ikan bawal bintang memiliki tujuan yaitu untuk mendapatkan hasil panen berupa ikan dalam ukuran besar dan dalam waktu yang secepatnya. Hasil panen merupakan hasil kombinasi berbagai hal yang menentukan dalam proses budi daya, yaitu luas petak, jumlah tebar, kualitas benih, pemberian pakan dan faktor lingkungan. Bawal bintang di Indonesia menjanjikan, karena kebutuhan pasar lokal sangat besar dan eksportnya bisa lebih ke banyak negara. Sebagaimana dikatakan oleh Silvia *et al.* (2024), produksi benih ikan bawal bintang dari tahun ke tahun semakin meningkat. Dengan permintaan yang besar ini dan berkurangnya ikan bawal bintang hasil penangkapan di laut, maka perlu adanya usaha untuk meningkatkan produksi hasil budi daya. Peningkatan produksi mempunyai kendala, salah satunya yaitu beberapa penyakit ikan.

Perkembangan budi daya ikan bawal bintang ini masih dihadapkan pada beberapa masalah, diantaranya adalah penyakit infeksi. Penyakit infeksi pada ikan dapat disebabkan karena patogen, yang terdiri dari parasit, bakteri, jamur dan virus. Penelitian terkini mengenai ektoparasit pada ikan bawal bintang (*T. blochii*) melaporkan bahwa jenis ektoparasit yang ditemukan di Teluk Lampung dan Kota Tanjungpinang meliputi *Pyragraphorus hollisae*, *Neobenedenia girellae*, *Benedenia* sp., dan *Zeylanicobdella arugamensis*. Di Teluk Lampung, *Pyragraphorus hollisae* mendominasi dengan prevalensi tinggi, sedangkan di Kota Tanjungpinang, *Zeylanicobdella arugamensis* ditemukan dengan prevalensi 30% dan intensitas sedang (Istikomah *et al.*, 2023; Azuar *et al.*, 2019). Menurut Lindholm-Lehto dan Pylkkö (2024), dua penyakit yang disebabkan oleh jamur yang sering terjadi dalam budi daya ikan laut adalah *Saprolegniasis* yang disebabkan oleh jamur genus *Saprolegnia* dan *Ichthyosporidiosis* yang disebabkan oleh parasit *Ichthyophonus hoferi*. Kedua penyakit ini dapat menginfeksi kulit, insang, dan otot ikan, serta mengakibatkan kerusakan yang signifikan pada kesehatan ikan (Özcan dan Arserim, 2022). Infeksi *Megalocytivirus* menjadi masalah besar dalam budi daya ikan laut seperti kerapu, barramundi, dan bawal bintang. Penyakit ini dapat menimbulkan kerugian ekonomi yang signifikan, dengan gejala klinis yang meliputi penurunan nafsu makan, pergerakan ikan yang lesu, serta perubahan warna tubuh yang lebih gelap. Selain itu, bakteri patogen seperti *Vibrio* juga dapat menginfeksi bawal bintang (Rifai *et al.*, 2019; Manchanayake *et al.*, 2023).

Pemilihan ikan bawal bintang (*T. blochii*) sebagai objek penelitian didasarkan pada perannya sebagai salah satu komoditas utama dalam budi daya laut di Indonesia, khususnya di Perairan Teluk Lampung. Tingginya nilai ekonomi dan peningkatan permintaan pasar menjadikan ikan ini sebagai target pengembangan budi daya secara berkelanjutan. Namun, kerentanannya terhadap infeksi berbagai jenis patogen, termasuk bakteri *Vibrio*, menjadikan ikan ini sangat relevan untuk dikaji lebih lanjut. Penelitian yang fokus pada aspek kesehatan ikan ini penting untuk

mendukung produktivitas budi daya dan mengurangi risiko kerugian ekonomi. Selain itu, terbatasnya kajian yang secara khusus mengkaji infeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* pada bawal bintang semakin memperkuat urgensi pemilihan spesies ini sebagai model penelitian.

Salah satu jenis bakteri *Vibrio* yang menyerang ikan air laut yaitu *V. parahaemolyticus*, bakteri ini merupakan gram negatif berbentuk batang lengkung yang bersifat halofilik, motil, dan dapat tumbuh optimal pada konsentrasi garam sekitar 3%. Bakteri ini umum ditemukan di lingkungan laut dan estuari, serta dapat menyebabkan infeksi pada manusia melalui konsumsi makanan laut yang terkontaminasi (Guo *et al.*, 2025). Beberapa karakteristik biokimia *V. parahaemolyticus* membedakannya dari spesies *Vibrio* lainnya, seperti *V. cholerae* dan *V. alginolyticus*. Salah satu perbedaan utama adalah kemampuan dalam fermentasi sukrosa. Pada media selektif TCBS agar, *V. parahaemolyticus* tidak memfermentasi sukrosa dan menghasilkan koloni berwarna biru-hijau, sementara *V. cholerae* dan *V. alginolyticus* dapat memfermentasi sukrosa dan menghasilkan koloni berwarna kuning (Wessel *et al.*, 2025). Ikan yang terinfeksi *V. parahaemolyticus* menunjukkan gejala klinis awal berupa penurunan nafsu makan, lesu, berenang di dekat permukaan air, serta perubahan warna kulit. Ikan yang lebih parah kondisinya memperlihatkan ginjal yang pucat, borok pada tubuh dan mulut yang merah, serta perdarahan pada sirip dan organ internal. Luka pada tubuh ikan mulai terlihat sekitar 6 hari setelah infeksi dan semakin berkembang menjadi borok yang berdiameter hingga 2 cm seiring berjalannya waktu. Gejala klinis ini sesuai dengan temuan dalam penelitian yang menunjukkan tanda-tanda vibriosis pada ikan budi daya yang terinfeksi *V. parahaemolyticus* dan *V. harveyi* (Aly *et al.*, 2023).

Keanekaragaman bakteri *Vibrio* dapat dipelajari melalui karakterisasi biokimiawi. Proses karakterisasi biokimiawi ini mengungkap keanekaragaman bakteri dengan melihat karakter fenotipnya. Oleh sebab itu, untuk mengetahui keanekaragaman bakteri *Vibrio*, diperlukan karakterisasi

biokimia dan molekuler ini (Orozco-Ochoa *et al.*, 2023). Bakteri *V. parahaemolyticus* diverifikasi secara konvensional dengan pewarnaan Gram, uji katalase dan uji oksidase, dilanjutkan dengan uji biokimia menggunakan API KIT 20E.

Penggunaan antibakteri dalam pengendalian *V. parahaemolyticus* telah menjadi pendekatan utama dalam akuakultur. Namun, resistensi antibakteri semakin menjadi perhatian utama. Berdasarkan penelitian oleh Thaotumpitak *et al.* (2024), beberapa isolat *V. parahaemolyticus* telah menunjukkan resistensi terhadap antibakteri tertentu yang umum digunakan di sektor perikanan. Resistensi antibakteri pada *V. parahaemolyticus* disebabkan oleh penggunaan antibakteri yang tidak terkontrol, yang dapat menyebabkan seleksi bakteri resisten dalam ekosistem budi daya. Lebih lanjut, dalam penelitian oleh Hirshfeld *et al.* (2023), ditemukan bahwa resistensi antibakteri pada isolat *Vibrio* yang diisolasi dari udang komersial bergantung pada jenis antibakteri yang digunakan dan dosis yang diterapkan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa antibakteri dengan mekanisme yang menghambat sintesis dinding sel lebih efektif dibandingkan dengan antibakteri yang bekerja pada sintesis protein. Namun, penggunaan antibakteri yang tidak tepat dapat menyebabkan penurunan efektivitas akibat munculnya mekanisme pertahanan bakteri, seperti produksi enzim β -laktamase atau perubahan pada target molekuler antibakteri.

Beberapa tahun terakhir ini, telah banyak penelitian yang mengidentifikasi *Vibrio* dari ikan-ikan air laut. Namun, kajian mengenai karakterisasi biokimia *V. parahaemolyticus* pada ikan bawal bintang (*T. blochii*) masih terbatas. Penelitian sebelumnya umumnya hanya berfokus pada isolasi dan identifikasi bakteri *Vibrio* pada ikan laut tanpa analisis lebih lanjut mengenai karakteristik biokimianya. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melakukan karakterisasi biokimia *V. parahaemolyticus* yang ditemukan pada ikan bawal bintang serta menguji kepekaannya terhadap antibakteri. Penggunaan antibakteri dalam pengendalian penyakit akibat *V.*

parahaemolyticus menjadi metode yang umum diterapkan dalam industri perikanan. Namun, efektivitasnya dapat bervariasi tergantung pada resistensi bakteri yang berkembang di lingkungan perairan. Dengan demikian, penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang lebih mendalam mengenai karakterisasi biokimia *V. parahaemolyticus* serta kepekaannya terhadap antibakteri. Urgensi penelitian ini terletak pada perlunya data ilmiah yang spesifik terhadap bakteri lokal sebagai dasar dalam pemilihan agen antibakteri yang efektif, serta sebagai upaya preventif dalam pengendalian penyakit bakterial yang dapat menyebabkan kerugian ekonomi pada budi daya ikan laut.

1.2. Rumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Bagaimana karakterisasi biokimia *Vibrio parahaemolyticus* pada ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*)?
2. Bagaimana efektivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio parahaemolyticus* pada ikan bawal bintang?

1.3. Tujuan

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk mengkarakterisasi dan mengidentifikasi bakteri patogen *Vibrio parahaemolyticus* pada ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*) secara biokimia.
2. Untuk menganalisis efektivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio parahaemolyticus* yang telah teridentifikasi sebagai patogen pada ikan bawal bintang.

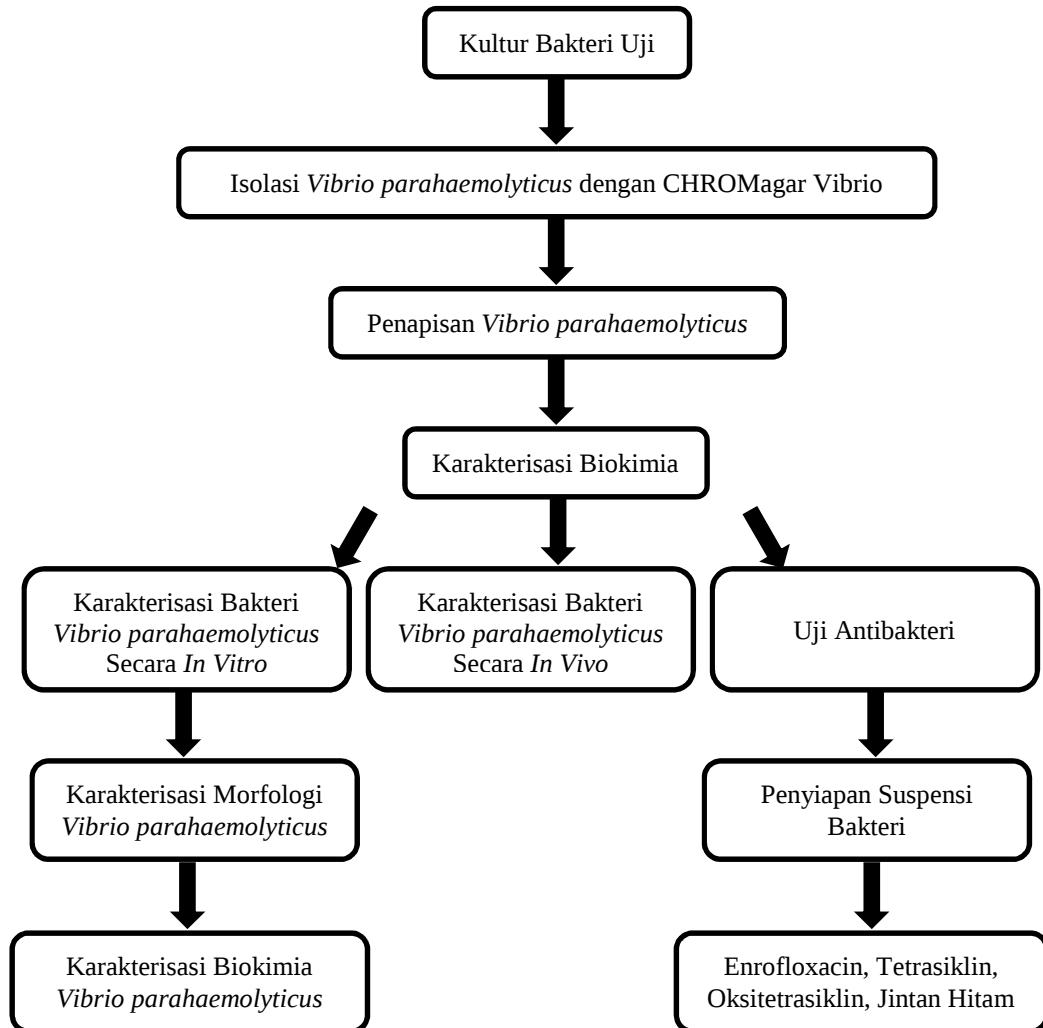
1.4. Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Melalui penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi status penyakit bakteri pada pembudidaya ikan sehingga dapat dilakukan tindakan pencegahan terhadap penyakit bakteri yang merugikan usaha budi daya ikan
2. Informasi mengenai uji antibakteri terhadap *Vibrio parahaemolyticus* dapat menjadi referensi dalam pengembangan strategi pengendalian penyakit bakteri yang efektif, serta membantu dalam memilih agen antibakteri yang sesuai untuk kesehatan ikan dalam sistem budi daya.

1.5. Kerangka Pikir

Kerangka konsep penelitian seperti terlihat pada Gambar 1,



Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bawal Bintang (*Trachinotus blochii*)

Ikan bawal bintang (*T. blochii*) memiliki tubuh pipih, hidung mancung, sirip punggung dan sirip dada yang panjang, sedangkan sirip dubur berwarna jingga dengan warna kecokelatan pada batas anteriornya, dapat tumbuh dengan panjang mencapai 65 cm. Bawal bintang (*T. blochii*) memiliki posisi mulut subterminal dengan dilengkapi gigi beludru halus (*villiiform teeth*). Sirip punggung (*dorsal fin*) diawali jari-jari keras yang sedikit terbenam ke dalam tubuh sebanyak 7-9 dan di puncak punggung bermula jari-jari lemah yang memanjang hampir menyentuh ekor sebanyak 19-21. Sirip dubur (*anal fin*) dimulai dengan 2-3 jari-jari keras, tepat dibelakang urogenitalia dan disambung dengan 16-18 jari-jari lemah yang memanjang hingga pangkal ekor. Sirip perut (*ventral fin*) ada sepasang dan tepat dibawah sirip dada (*pectoral fin*) yang menyerupai bendera dan tumbuh tepat dibelakang keping tutup insang utama (*operculum*). Ikan bawal bintang memiliki tubuh yang tertutup oleh sisik-sisik kecil bertipe sikloid (halus) yang sebagian tertanam. Gurat sisi sedikit melengkung hingga di bawah tengah sirip punggung kedua dan kemudian lurus setelahnya (FAO, 2016).

Ikan bawal bintang (*T. blochii*) memiliki habitat alami yang meliputi zona intertidal hingga laut lepas, dan dapat hidup di muara sungai yang bersalinitas payau. Ikan ini lebih menyukai habitat di laut berkarang. Ikan bawal bintang muda biasanya hidup di muara sungai dengan dasar berpasir atau berlumpur, sementara ikan dewasa migrasi ke daerah terumbu karang. Proses pemijahan dimulai dengan ikan jantan dan betina berhenti makan 24 jam sebelum pemijahan. Proses pemijahan ini ditandai dengan keluarnya

telur dan sperma pertama kali, dan berlangsung selama 30 hingga 36 jam (Cahyanurani *et al.*, 2022)

Ikan bawal bintang (*T. blochii*) memiliki habitat alami di air laut dengan salinitas normal, namun juga dapat hidup di air payau. Ikan juvenil hidup bergerombol di daerah muara sungai dan berkarang, sedangkan ikan dewasa hidup soliter di daerah terumbu karang dan laut lepas. Ciri fisik ikan bawal bintang meliputi tubuh berbentuk gepeng, dengan warna putih keperakan pada bagian lateral dan ventral, serta abu-abu kehijauan pada bagian dorsal. Ikan ini memiliki gigi beludru halus (*villiform teeth*), dengan ukuran dewasa lebih dari 1 kg dan panjang lebih dari 25 cm (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2017).

Ikan bawal bintang (*T. blochii*) adalah spesies pelagis yang ditemukan di perairan tropis, dengan habitat utama di daerah terumbu karang, dekat pantai, dan bebatuan. Ikan ini tersebar di wilayah Indo-Pasifik, mulai dari Laut Merah dan Afrika Timur hingga Kepulauan Marshall, Samoa, dan selatan Jepang serta Australia. Pada fase juvenil, ikan ini hidup bergerombol di muara sungai dengan dasar berpasir atau berlumpur, sementara ikan dewasa hidup soliter di perairan yang lebih dalam seperti terumbu karang dan laut lepas (Seychelles Mariculture Master Plan, 2019).

Budi daya ikan bawal bintang mengalami berbagai macam kendala. Salah satu masalah yang timbul dalam budi daya bawal bintang adalah terserang penyakit salah satunya infeksi bakteri. Jenis bakteri yang sering menyerang bawal bintang adalah *Vibrio sp.* (Novriadi *et al.*, 2014). *V. alginolyticus* merupakan bakteri patogen yang sering menginfeksi ikan laut, menyebabkan gejala penyakit, dan dapat menyebabkan kematian massal pada ikan budi daya. Penelitian menunjukkan bahwa infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini menjadi salah satu penyebab utama kerugian besar dalam industri akuakultur (Sun *et al.*, 2024). Penanganan penyakit jenis bakteri dapat diatasi dengan antibakteri, namun penggunaan antibakteri

dapat menyebabkan resistensi pada bakteri dan residunya berbahaya untuk manusia.

Dalam proses infeksi pada ikan, bakteri dapat menghasilkan zat racun yang disebut sebagai toksin yang merupakan produk ekstraseluler, sehingga dapat membunuh organisme inang atau memudahkan bakteri masuk ke dalam tubuh inang. Toksin yang dihasilkan oleh bakteri patogen ini akan merusak sel dan jaringan inang secara keseluruhan. Kerusakan sel merupakan interaksi toksin dengan inang. Simidu (1987) dalam Martono *et al.*, (2007) mengungkapkan bahwa beberapa jenis bakteri patogen memproduksi toksin tetrodotoksin. Bakteri-bakteri penghasil toksin tersebut antara lain adalah *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, dan bakteri *V. anguillarum*.

Ikan bawal bintang (*T. blochii*) yang terinfeksi bakteri *Vibrio* menunjukkan gejala klinis seperti penurunan nafsu makan (anoreksia), perubahan warna tubuh menjadi gelap, pendarahan pada sirip (hemoragi), dan mata yang buram atau keruh. Vibriosis umumnya dipicu oleh tingginya padat penebaran, salinitas yang tidak stabil, dan akumulasi bahan organik dalam air. Ikan yang mengalami stres lebih rentan terhadap infeksi *Vibrio* sp. Pencegahan dapat dilakukan dengan menjaga kualitas perairan yang baik, penanganan yang sesuai prosedur, pengaturan padat penebaran yang rendah, dan vaksinasi secara berkala sesuai dengan jenis atau kondisi ikan (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2017).

2.2. *Vibrio parahaemolyticus*

Penyakit vibriosis pada ikan sering menyebabkan kerugian besar akibat kematian yang ditimbulkan, dan salah satu penyebab utama adalah infeksi oleh bakteri *V. parahaemolyticus*. Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif, halofilik, motil, dan berbentuk bengkok atau koma. *V. parahaemolyticus* juga menghasilkan energi untuk pertumbuhannya dengan

oksidasi dan bersifat fakultatif anaerob. Bakteri ini memiliki flagelum kutub tunggal dan tidak dapat membentuk spora. (Siddique *et al.*, 2021).

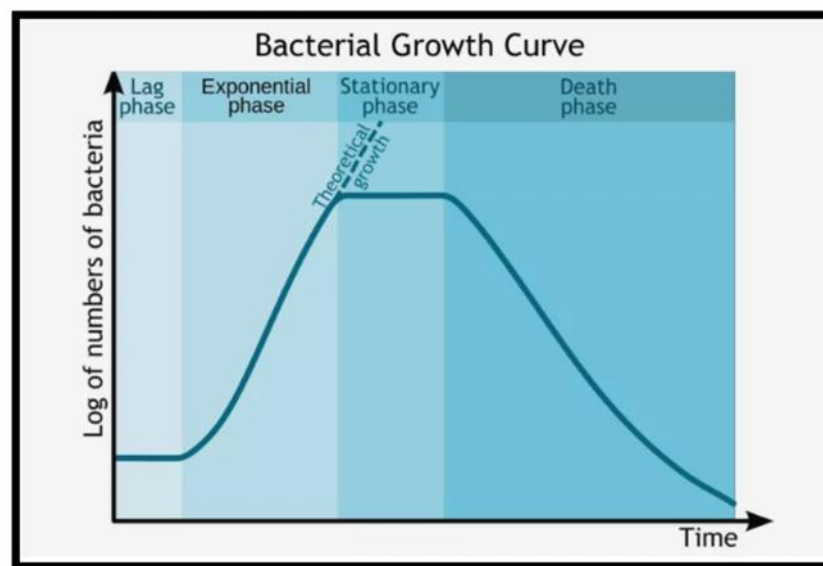
Berdasarkan studi yang dilakukan oleh Zaher *et al.* (2021), prevalensi *V. parahaemolyticus* yang ditemukan dalam ikan tilapia mencapai 24,8% dari 250 sampel yang diuji. Penelitian ini juga mengungkapkan bahwa penggunaan antibakteri secara berlebihan pada budi daya ikan menyebabkan terjadinya resistensi antibakteri pada isolat *V. parahaemolyticus*, dengan nilai MAR (*Multiple Antibiotic Resistance*) mencapai 0,587, yang menunjukkan adanya penyebaran resistensi bakteri yang signifikan dalam lingkungan perikanan (Zaher *et al.*, 2021).

Selain itu, penelitian oleh Guin *et al.* (2019) mengidentifikasi *V. parahaemolyticus* pada ikan air laut, dan lingkungan perairan. Hasil mereka menunjukkan bahwa strain *V. parahaemolyticus* lebih sering ditemukan pada ikan dan air perairan. Hal ini mengindikasikan bahwa ikan dan lingkungan perairan dapat bertindak sebagai reservoir penting bagi *V. parahaemolyticus* yang patogenik, yang juga dapat berpotensi menyebabkan infeksi pada manusia jika terkontaminasi.

Pertumbuhan *V. parahaemolyticus*, seperti halnya bakteri lain, mengikuti pola kurva pertumbuhan yang terdiri dari empat fase utama, yaitu fase lag (adaptasi), fase eksponensial (logaritmik), fase stasioner, dan fase kematian. Pada fase lag, sel belum membelah, tetapi mulai beradaptasi dengan lingkungan barunya. Fase eksponensial merupakan periode pertumbuhan paling aktif, di mana pembelahan sel terjadi secara cepat dan populasi meningkat secara logaritmik. Fase ini penting dalam uji antimikroba karena bakteri berada dalam kondisi fisiologis terbaik untuk merespons perlakuan (Bailey, 2024).

Kurva ini juga digunakan sebagai dasar dalam penelitian mikrobiologi untuk menentukan waktu inokulasi yang tepat. Dalam studi oleh Risna *et*

al. (2022). Hasil serupa juga ditemukan oleh Ughy *et al.* (2023) yang meneliti pola pertumbuhan dan dinamika ekspresi gen pada bakteri gram-negatif, menunjukkan pentingnya fase eksponensial sebagai titik optimal untuk analisis metabolisme dan respons terhadap stres lingkungan. Kurva ini dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva pertumbuhan bakteri secara umum (Bailey, 2024).

Keterangan:

Lag phase = fase adaptasi awal bakteri terhadap lingkungan.

Exponential phase = fase pertumbuhan cepat dan pembelahan aktif.

Stationary phase = fase pertumbuhan seimbang dengan kematian sel.

Death phase = fase jumlah sel mati melebihi sel yang baru terbentuk

Sumbu X = waktu inkubasi (jam atau hari)

Sumbu Y = jumlah bakteri dalam skala logaritmik (log CFU/mL)

2.3. Karakterisasi biokimia

Identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan metode konvensional dan molekuler. Metode konvensional dapat dilakukan dengan

berdasarkan pada karakteristik fenotip yaitu pewarnaan Gram, morfologi dan reaksi biokimia. Pewarnaan Gram merupakan salah satu metode konvensional yang digunakan dalam identifikasi bakteri berdasarkan karakteristik dinding sel bakteri. Proses pewarnaan ini membagi bakteri menjadi dua kelompok utama, yaitu Gram positif dan Gram negatif, berdasarkan ketebalan lapisan peptidoglikan pada dinding selnya. Bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal, sehingga dapat mempertahankan warna ungu dari kristal violet, sementara bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis dan tidak dapat mempertahankan warna ungu, yang kemudian digantikan dengan warna merah dari safranin (Apriani *et al.*, 2023).

Identifikasi bakteri melalui pengamatan aktivitas biokimia saat ini bisa lebih mudah dengan menggunakan Kit API (*Analytical Profile Index*). Menurut Artati dan Oman (2020), identifikasi bakteri melalui pengamatan aktivitas biokimia saat ini bisa lebih mudah dengan menggunakan kit API (*Analytical Profile Index*). Ada beberapa jenis kit API yang dapat digunakan dan tergantung dari jenis pengujian yang dibutuhkan. Dalam penelitian ini, digunakan API 20E, yang menurut Ezeamagu *et al.* (2024), terbukti efektif dalam mengidentifikasi spesies *Vibrio*, termasuk *V. parahaemolyticus*, dari sampel lingkungan. Kit ini dapat menjadi alternatif metode molekuler dalam diagnosis wabah yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio*, karena efisiensi biaya dan kemudahan penggunaannya.

Sistem API 20E adalah sistem identifikasi mikroba yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri gram negatif, termasuk anggota keluarga *Enterobacteriaceae* dan *Vibrionaceae*. Sistem ini menggunakan strip plastik yang mengandung 20 kavitas berisi substrat biokimia untuk menguji karakteristik metabolik mikroba. Setelah inkubasi, perubahan warna atau produksi gas/asam digunakan untuk menentukan profil biokimia mikroba. Profil ini kemudian dicocokkan dengan database referensi untuk mengidentifikasi spesies bakteri yang diuji. Menurut Rakotovao-Ravahatra

et al. (2021), API 20E menunjukkan tingkat konsistensi yang tinggi dalam mengidentifikasi bakteri gram negatif, dengan tingkat kesesuaian mencapai 90,6% antara hasil identifikasi menggunakan API 20E dan sistem Bis NEG-D, yang menunjukkan keandalannya sebagai metode identifikasi bakteri di laboratorium medis.

Menurut Kaysner, *et al.* (2004) dalam Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 9, API 20E adalah suatu kit diagnostik cepat yang dapat digunakan sebagai alternatif untuk mengidentifikasi isolat mikroorganisme. Kit ini mengandung strip plastik dengan berbagai kompartemen berisi reagen biokimia. Dengan menggunakan kit ini, reaksi biokimia dari mikroorganisme diuji secara sistematis, dan hasilnya dapat digunakan untuk mengidentifikasi jenis mikroorganisme dengan lebih cepat daripada menggunakan berbagai media biokimia tradisional.

Isi tabung mikro API 20E terdiri dari bahan kimia untuk uji biokimia, yang dapat dilihat dalam Tabel 1. Untuk mengimplementasikan metode ini, dibutuhkan berbagai reagen dan material tambahan yang tidak termasuk dalam paket, termasuk medium API NaCl 0.85%, kit reagen API 20 E, JAMES, VP 1 + VP 2, NIT 1 + NIT 2, kertas oksidase, minyak mineral, serta perangkat lunak identifikasi API Web (bioMérieux, 2002). API 20 E tidak dapat langsung digunakan untuk menguji sampel spesimen. Isolasi bakteri yang akan diidentifikasi harus terlebih dahulu dilakukan pada media kultur.

Kit API 20E telah dilengkapi dengan kotak inkubasi, yang terdiri dari wadah dan penutup transparan berbahan plastik, digunakan untuk menginkubasi strip selama pengujian. Sebelum penggunaan, wadah telah diberi kode sampel terlebih dahulu, dan setiap sumur di dalamnya diisi dengan akuades. Strip yang akan digunakan kemudian diletakkan dengan hati-hati di dalam kotak inkubasi. Strip tersebut memiliki sumur-sumur

yang berisi reagen dalam bentuk kering dan dilengkapi dengan kode jenis pengujian (Artati dan Oman, 2020).

Untuk mengevaluasi sejauh mana suatu isolat bakteri mampu menyebabkan penyakit pada ikan, diperlukan pengujian patogenisitas secara *in vivo*. Salah satu pendekatan kuantitatif yang umum digunakan dalam uji patogenisitas adalah penentuan nilai LD₅₀ (*Lethal Dose 50*). LD₅₀ merupakan dosis atau konsentrasi bakteri yang menyebabkan kematian pada 50% populasi hewan uji dan digunakan untuk menilai tingkat virulensi suatu patogen. Nilai LD₅₀ yang rendah menunjukkan bahwa isolat sangat patogen karena mampu menimbulkan kematian pada konsentrasi yang lebih kecil, sedangkan nilai LD₅₀ yang tinggi menunjukkan virulensi yang lebih rendah. Menurut Olga (2013), metode penentuan LD₅₀ yang umum digunakan dalam penelitian perikanan adalah metode Reed and Muench. Selain itu, penelitian oleh Mangunwardoyo *et al.* (2010) melaporkan bahwa *Aeromonas hydrophila* menunjukkan virulensi tinggi terhadap ikan nila (*Oreochromis niloticus*) berdasarkan uji patogenisitas melalui pendekatan Postulat Koch dan penilaian LD₅₀. Dengan demikian, penentuan LD₅₀ dapat digunakan sebagai dasar untuk menilai tingkat bahaya suatu patogen dan mendukung langkah-langkah pengendalian penyakit pada ikan budi daya.

Tabel 1. Tes Biokimia dan Reaksi Substrat pada API 20E (bioMérieux, 2010)

Test	Komposisi	Reaksi	Hasil	
			Negatif	Positif
ONPG	<i>2 Nitrophenyl βD Galactopyranoside</i>	<i>Ortho Nitrophenyl βD Galactopyranosidase</i>	Tidak berwarna	Kuning
ADH	<i>L-Arginine</i>	<i>Arginine Dihydrolase</i>	Kuning	Merah-orange
<u>LDC</u>	<i>L-Lysin</i>	<i>Lysine Decarboxilase</i>	Kuning	Merah-Orange
ODC	<i>L-Ornithin</i>	<i>Ornithine decarboxilase</i>	Kuning	Merah-Orange
<u>[CIT]</u>	<i>Trinatriumcitrat</i>	<i>Citrate utilization</i>	Hijau-kuning pucat	Hijau kebiruan- biru
<u>H₂S</u>	<i>Natriumthiosulfat</i>	Produksi H ₂ S	Tidak berwarna- kehijauan	Deposit hitam
<u>URE</u>	<i>Urea</i>	<i>Urease</i>	Kuning	Merah-orange
TDA	<i>L-Tryptophane</i>	<i>Tryptophane deaminase</i>	Kuning	Cokelat kemerahan
IND	<i>L-Tryptophane</i>	Produksi indol	Tidak berwarna-hijau pucat-kuning pucat	Merah muda
<u>[VP]</u>	<i>Natriumpyruvat</i>	Produksi acetoin	Tidak berwarna- merah muda pucat	Merah muda-merah
<u>[Gel]</u>	<i>Gelatin</i>	<i>Gelatinase</i>	Tidak ada difusi	Pigmen hitam
Glu	<i>D-glukosa</i>	Fermentasi-oksidasi	Biru-biru kehijauan	Kuning – kuning kehijauan
Man	<i>D-manitol</i>	Fermentasi-oksidasi	Biru-biru kehijauan	Kuning
INO	<i>Inositol</i>	Fermentasi-oksidasi	Biru-biru kehijauan	Kuning
SOR	<i>D-sorbitol</i>	Fermentasi-oksidasi	Biru-biru kehijauan	Kuning
RHA	<i>L-Rhamnosa</i>	Fermentasi-oksidasi	Biru-biru kehijauan	Kuning
SAC	<i>D-sakarosa</i>	Fermentasi-oksidasi	Biru-biru kehijauan	Kuning
MEL	<i>D-melibiosa</i>	Fermentasi-oksidasi	Biru-biru kehijauan	Kuning
AMY	<i>Amygdalin</i>	Fermentasi-oksidasi	Biru-biru kehijauan	Kuning
ARA	<i>L-arabinosa</i>	Fermentasi-oksidasi	Biru-biru kehijauan	Kuning
OX	Tes oksidase	<i>Cytochrome-oksidase</i>	Tidak ada perubahan warna	Ungu

2.4. Uji Antibakteri

Uji antibakteri bertujuan untuk menilai efektivitas suatu zat dalam menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri patogen. Dalam sektor

akuakultur, pengendalian penyakit bakteri seperti yang disebabkan oleh *V. parahaemolyticus* menjadi tantangan utama. Beberapa jenis antibakteri yang sering digunakan untuk tujuan ini meliputi antibakteri sintetik seperti enrofloxacin, tetrasiklin, dan oksitetrasiklin, serta agen antibakteri alami seperti minyak atsiri dari tanaman obat, termasuk jintan hitam (*Nigella sativa*) dan bunga kenanga (*Cananga odorata*) (Ariyanti *et al.*, 2022; Herlina *et al.*, 2020).

Enrofloxacin terbukti efektif dalam mengatasi infeksi bakteri seperti *Pseudomonas aeruginosa* dan *Enterococcus faecalis* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Penelitian oleh Aboyadak dan Ali (2024) menunjukkan bahwa enrofloxacin memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap kedua bakteri tersebut, dengan nilai MIC yang rendah, yaitu 1 µg/mL untuk *P. aeruginosa* dan 0.0625 µg/mL untuk *E. faecalis*. Selain itu, model farmakokinetik berbasis suhu yang dikembangkan oleh Yang *et al.* (2021) menunjukkan bahwa enrofloxacin tetap efektif pada berbagai suhu air, yang sangat relevan untuk aplikasi dalam budi daya ikan di perairan laut maupun air tawar.

Kekhawatiran terhadap resistensi antibakteri, eksplorasi agen antibakteri alami menjadi semakin penting. Ryant dan Maimunah (2019) meneliti aktivitas antibakteri minyak dan air destilat bunga kenanga terhadap *Staphylococcus epidermidis* menggunakan *tetrasiklin* HCl sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri bunga kenanga memiliki zona hambat yang signifikan terhadap bakteri uji, yang mendekati efektivitas *tetrasiklin* HCl.

Penelitian ini mengindikasikan bahwa senyawa aktif dalam minyak atsiri bunga kenanga berpotensi digunakan sebagai alternatif alami dalam pengendalian infeksi bakteri. Mekanisme antibakterinya kemungkinan terkait dengan kandungan senyawa fenolik dan terpenoid yang telah diketahui memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri Gram-positif dan Gram-negatif.

Selain minyak atsiri bunga kenanga, ekstrak jintan hitam (*N. sativa*) juga menunjukkan efektivitas terhadap bakteri patogen di perairan. Manju *et al.* (2016) menemukan bahwa ekstrak jintan hitam dapat melindungi artemia dari efek patogenik *V. parahaemolyticus*, mengurangi mortalitas, dan meningkatkan ketahanan organisme terhadap infeksi. Dengan adanya kombinasi antara antibakteri sintetis dan agen antibakteri alami, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas *enrofloxacin*, *tetrasiklin*, *oksitetrasiklin*, ekstrak jintan hitam dalam menghambat pertumbuhan *V. parahaemolyticus* yang menginfeksi ikan bawal bintang (*T. blochii*).

Antibakteri bekerja dengan berbagai mekanisme untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri patogen. Dua mekanisme utama yang paling umum adalah penghambatan sintesis dinding sel dan sintesis protein. Penghambatan sintesis dinding sel sangat efektif karena dinding sel berfungsi sebagai pelindung utama yang menjaga integritas dan kekuatan mekanik bakteri. Antibakteri golongan β -laktam, seperti enrofloxacin dan penisilin, menghambat enzim transpeptidase yang berperan dalam pembentukan peptidoglikan, komponen utama dinding sel. Penghambatan ini menyebabkan dinding sel menjadi rapuh sehingga bakteri mengalami lisis dan mati (Bush dan Bradford, 2016). Di sisi lain, antibakteri seperti tetrasiklin dan oksitetrasiklin menghambat sintesis protein dengan cara mengikat subunit ribosom bakteri dan mengganggu proses translasi protein yang esensial untuk pertumbuhan dan reproduksi bakteri. Mekanisme ini biasanya bersifat bakteristatik, yaitu menghentikan pertumbuhan bakteri sehingga sistem imun inang dapat mengeliminasi infeksi (Chopra dan Roberts, 2001).

Ekstrak jintan hitam (*N. sativa*) mengandung senyawa bioaktif utama seperti thymoquinone yang memiliki efek antibakteri multifaset. Senyawa ini mampu merusak membran sel bakteri dengan meningkatkan permeabilitas membran, sehingga menyebabkan kebocoran komponen esensial dan gangguan homeostasis yang berujung pada kematian sel. Selain itu,

thymoquinone juga diduga menghambat enzim penting dalam metabolisme energi dan sintesis protein pada bakteri, sehingga mengganggu proses metabolik dan pertumbuhan bakteri (Ahmad *et al.*, 2013). Selain efek langsung terhadap bakteri, ekstrak ini juga memiliki sifat antioksidan dan imunomodulator yang meningkatkan daya tahan inang dalam melawan infeksi. Oleh karena itu, ekstrak jintan hitam berpotensi sebagai agen antibakteri alami yang efektif, khususnya terhadap bakteri Gram negatif seperti *V. parahaemolyticus*, serta alternatif yang menjanjikan untuk mengatasi resistensi antibakteri sintetik.

III. METODOLOGI

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada September-Desember 2024 dan April-Mei 2025, bertempat di Balai Besar Perikanan Budi Daya Laut Lampung, Jl. Yos Sudarso, Hanura, Kecamatan Teluk Pandan, Kabupaten Pesawaran.

3.2. Alat dan Bahan

1.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Alat-Alat Penelitian

No.	Alat	Kegunaan
1	Inkubator	Menginkubasi isolat bakteri pada suhu tertentu
2	Timbangan analitik	Menimbang bahan atau media dengan ketelitian tinggi
3	<i>Centrifuge</i>	Memisahkan komponen dalam cairan berdasarkan densitas
4	<i>Vortex-mixer</i>	Mencampur larutan dalam tabung secara merata
5	<i>Autoclave</i>	Mensterilkan alat dan media dengan uap bertekanan
6	<i>Laminar air flow</i>	Menyediakan ruang kerja aseptis untuk inokulasi isolat
7	<i>Hot plate stirrer</i>	Memanaskan dan mengaduk larutan secara bersamaan
8	<i>Waterbath shaker</i>	Menginkubasi larutan pada suhu tetap dengan pengocokan
9	Cawan petri	Wadah untuk menumbuhkan kultur bakteri
10	<i>Beaker glass</i>	Wadah untuk mencampur dan menampung larutan
11	<i>Erlenmeyer</i>	Wadah untuk mencampur dan menyimpan
12	Tabung reaksi	Tempat reaksi kimia dalam volume kecil
13	Gelas ukur	Mengukur volume cairan secara kasar
14	<i>Mikropipet</i>	Memindahkan larutan dalam volume kecil secara presisi
15	Akuarium pemeliharaan ikan	Menampung dan memelihara ikan uji selama perlakuan

1.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Bahan-Bahan Penelitian

No.	Bahan	Kegunaan
1	Isolat <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Bakteri uji utama yang akan dikarakterisasi dan diuji
2	Media darah	Untuk mengamati aktivitas hemolitik bakteri
3	CHROMagar Vibrio	Media selektif untuk isolasi presumtif <i>Vibrio parahaemolyticus</i>
4	TSA (Tryptic Soy Agar)	Media untuk pemurnian dan pertumbuhan bakteri secara umum
5	TSB (Tryptic Soy Broth)	Media cair untuk memperbanyak kultur bakteri
6	API 20E strip	Alat uji biokimia untuk identifikasi bakteri Gram negatif
7	Media suspensi API	Media cair khusus untuk aktivasi uji API 20E
8	Mineral oil	Digunakan dalam reaksi anaerobik pada API 20E
9	Reagen VP 1 + VP 2	Reagen untuk uji Voges-Proskauer (produksi asetoin)
10	Reagen NIT 1 + NIT 2	Reagen untuk uji reduksi nitrat pada API
11	Reagen PDA	Reagen untuk uji deaminasi asam amino (Phenylalanine Deaminase)
12	Reagen James	Reagen untuk uji indol dalam sistem API
13	Standar McFarland	Standar kekeruhan untuk menyamakan konsentrasi suspensi bakteri
14	Enrofloxacin	Antibiotik untuk uji sensitivitas terhadap bakteri
15	Tetrasiklin	Antibiotik untuk uji sensitivitas terhadap bakteri
16	Oksitetrasiklin	Antibiotik untuk uji sensitivitas terhadap bakteri
17	Ekstrak <i>N. sativa</i>	Bahan alami untuk uji potensi antibakteri alternatif

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Isolasi *Vibrio parahaemolyticus* dengan CHROMagar Vibrio
 Sampel bakteri diawali dengan enrichment (pengkayaan), isolasi bakteri menggunakan media selektif CHROMagar Vibrio untuk konfirmasi *V. parahaemolyticus* yang bersifat patogen. Koloni yang tumbuh pada media selektif CHROMagar Vibrio dan berwarna ungu kemerahan merupakan presumtif *V. parahaemolyticus*. Koloni tipikal *V. parahaemolyticus* kemudian diinokulasikan pada media agar miring Tryptic Soy Agar (TSA) ditambah 2% NaCl (Lee *et al.*, 2020).

3.3.2. Penapisan *Vibrio parahaemolyticus*

Bakteri *V. parahaemolyticus* yang digunakan sebagai bakteri uji diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Perikanan Budi Daya Laut Lampung. Peremajaan atau *enrichment* isolat dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri pada media cair dan kemudian digoreskan di media padat. Kegiatan penapisan *V. parahaemolyticus* bertujuan untuk mencari bakteri yang patogen dengan menggunakan agar darah atau Blood Agar Plate (BAP). Agar darah adalah media kultur yang mengandung darah hewan dan nutrien, yang digunakan untuk mendukung pertumbuhan bakteri. BAP digunakan sebagai media pertumbuhan untuk bakteri *Vibrio* dan dapat membedakan bakteri patogen berdasarkan efek eksotoksin hemolitik bakteri pada sel darah merah. Isolat *Vibrio* diinokulasi dengan teknik streak plate pada media BAP dan kemudian diinkubasi dalam kondisi steril selama 4 jam pada suhu 37°C. Aktivitas hemolisis ditunjukkan oleh zona hemolisis pada media BAP yang terlihat ketika cahaya menyinari dari belakang (Hikmawati, *et al.*, 2019)

3.3.3. Karakterisasi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara *In Vitro*

3.3.3.1 Karakterisasi morfologi *Vibrio parahaemolyticus*

Pengamatan morfologi bakteri secara makroskopis sangat penting untuk melakukan identifikasi awal terhadap koloni bakteri yang tumbuh pada media pertumbuhan. Pengamatan morfologi koloni bakteri mencakup beberapa ciri utama, seperti bentuk koloni, tepi koloni, dan elevasi koloni. Koloni bakteri dapat memiliki berbagai bentuk, seperti bulat, tidak teratur, filamentous, rhizoid, atau melingkar. Tepi koloni dapat berbentuk halus (*entire*), serat (*filamentous*), bergelombang (*undulate*), atau lobus (*lobate*). Selain itu, elevasi koloni dapat berupa koloni yang terangkat (*raised*), rata (*flat*), melengkung ke atas (*convex*), tonjolan (*umbonate*), atau tumbuh ke dalam media (*growth into medium*). Karakteristik ini dapat diamati dengan jelas menggunakan kaca pembesar atau mikroskop sederhana (Van Gray, n.d.). Ilustrasi yang

menggambarkan morfologi koloni bakteri, termasuk bentuk, margin, dan elevasi koloni, dapat ditemukan secara lebih jelas pada Lampiran 1. Gambar tersebut memberikan visualisasi yang mendetail mengenai karakteristik koloni yang diamati, yang dapat digunakan sebagai referensi untuk mendalami variasi morfologi yang ada.

Van Gray (n.d.) menjelaskan bahwa koloni bakteri dapat menunjukkan berbagai warna, seperti merah atau fluoresen pada koloni kecil, opak pada koloni besar, kuning, oranye dengan margin halus, dan coklat dengan margin tidak teratur. Warna-warna ini membantu dalam identifikasi dan klasifikasi spesies bakteri. Ilustrasi morfologi koloni bakteri yang menunjukkan variasi warna, seperti merah, kuning, oranye, dan coklat, dapat dilihat pada Lampiran 2. Gambar ini menggambarkan koloni dengan berbagai ukuran dan bentuk, serta karakteristik warna yang berbeda, yang membantu dalam identifikasi spesies bakteri berdasarkan penampilannya

3.3.3.2 Karakterisasi biokimia *Vibrio parahaemolyticus*

Karakterisasi biokimia patogen dilakukan dengan metode konvensional, melalui tes identifikasi *Analytical Profile Index* (API). Identifikasi mikroorganisme dengan metode API adalah identifikasi berdasarkan prinsip kolorimetri. Dilakukan pengecatan Gram dan uji biokimia berupa uji katalase dan uji oksidase pada isolat bakteri untuk menentukan strip reagen yang digunakan (Kusumaningsih *et al.*, 2021). Langkah pertama dilakukan tes biokimia sederhana dan pengecatan Gram terhadap isolat bakteri untuk memastikan bakteri yang akan diidentifikasi merupakan bakteri gram negatif. Suspensi bakteri dibuat dengan memasukkan isolat bakteri ke medium API. Suspensi bakteri yang dipakai dengan tingkat kekeruhan yang sesuai (0,5 Mc Farland). Suspensi bakteri yang digunakan untuk pengujian ini adalah suspensi bakteri yang berumur 18-24 jam yang ditumbuhkan pada media TSA. Suspensi bakteri yang telah dibuat kemudian didistribusikan ke masing-masing sumur pada strip

secara hati-hati agar tidak terbentuk gelembung udara yang akan memengaruhi pengujian. Volume suspensi bakteri pada sumur terbagi menjadi dua, yaitu untuk uji dengan kode CIT, VP, dan GEL maka sumur diisi penuh sedangkan untuk uji lainnya hanya diisi sebagian yaitu hanya sampai pada batas penutup sumur. Penambahan mineral oil dilakukan pada uji ADH, LDC, ODC, H₂S, dan URE untuk membuat kondisi menjadi anaerob. Setelah distribusi sampel selesai kemudian kotak inkubasi ditutup dan sampel diinkubasi pada suhu $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 18-24 jam (Artati dan Oman, 2020).

Kotak inkubasi disiapkan (nampan dan tutupnya), nampan diisi dengan air suling atau demineralized water untuk melembabkan, identitas sampel ditulis di nampan supaya tidak tertukar. Strip API ditempatkan di nampan. Strip terdiri atas sumur-sumur yang telah berisi reagen dalam bentuk kering dengan dilengkapi kode-kode jenis pengujian. Warna hasil uji biokimia dibaca setelah diinkubasi dengan merujuk pada nilai rujukan positif atau negatif API. API 20E memerlukan reagen tambahan (PDA untuk tes TDA, James untuk tes IND, VP1 dan VP2 untuk tes VP). Hasil bacaan dimasukkan ke API web atau disesuaikan dengan API *reading table* untuk menentukan strain (bioMérieux, 2002).

3.3.4. Patogenesis *Vibrio parahaemolyticus* secara *In Vivo*

Penelitian ini menggunakan ikan bawal bintang (*T. blochii*) sebagai organisme uji biologis, dengan berat rata-rata sekitar ± 13 gram. Ikan tersebut diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budi Daya Laut (BBPBL) Lampung, yang telah dikenal sebagai salah satu pusat unggulan dalam pengembangan teknologi budi daya ikan laut di Indonesia, khususnya dalam hal produksi benih unggul dan pemeliharaan induk. Pemilihan ikan dari sumber ini dilakukan untuk menjamin mutu dan kesehatan awal hewan uji, sehingga hasil penelitian yang diperoleh dapat merepresentasikan kondisi lapang secara lebih akurat.

Pemeliharaan ikan dilakukan di dalam akuarium kaca berkapasitas 300 liter. Masing-masing akuarium diisi sebanyak 10 ekor ikan, sehingga menghasilkan kepadatan sekitar 33 ekor/m³. Kepadatan ini ditetapkan berdasarkan pertimbangan keseimbangan antara kebutuhan ruang hidup ikan dan kemudahan pengamatan terhadap gejala klinis yang muncul selama uji patogenesis berlangsung. Menurut Handayani *et al.* (2021), dalam kegiatan pembesaran benih bawal bintang di BBPBL Lampung, ikan dengan ukuran relatif kecil umumnya dipelihara dalam sistem tertutup atau tangki indoor dengan kepadatan yang disesuaikan untuk meminimalkan stres dan menjaga performa fisiologis ikan secara optimal. Desain unit pemeliharaan dan penataan akuarium selama uji patogenesis secara lengkap dapat dilihat pada Lampiran 3.

Sementara itu, studi oleh Kalidas *et al.* (2020) yang mengevaluasi kepadatan optimal untuk pembesaran ikan *T. blochii* dalam keramba jaring apung menyebutkan bahwa kepadatan yang lebih rendah berkontribusi terhadap pertumbuhan yang lebih baik serta menurunkan risiko infeksi akibat penurunan kualitas air. Walaupun dilakukan dalam sistem terbuka, prinsip manajemen kepadatan tersebut tetap relevan diterapkan dalam skala laboratorium, terutama untuk memastikan kondisi lingkungan tetap stabil dan tidak memicu stres yang dapat menjadi variabel pengganggu dalam penelitian patogenesis bakteri.

Sebelum dilakukan inokulasi, isolat *V. parahaemolyticus* terlebih dahulu diremajakan dalam media Tryptone Soya Broth (TSB) yang ditambahkan 3% NaCl dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18–24 jam. Inkubasi pada kondisi ini bertujuan untuk mendorong pertumbuhan bakteri hingga fase logaritmik, yaitu fase aktif di mana ekspresi gen virulensi, seperti hemolisin dan sistem sekresi tipe III, berada dalam tingkat tertinggi sehingga meningkatkan potensi infeksi pada inang (Zhang *et al.*, 2024).

Setelah inkubasi, kultur bakteri dipindahkan ke media padat Tryptic Soy Agar (TSA) miring dengan kandungan garam serupa untuk memperoleh koloni yang lebih terkonsentrasi. Koloni yang tumbuh kemudian dikerok dan disuspensikan dalam larutan NaCl fisiologis 0,85%. Konsentrasi suspensi bakteri selanjutnya disesuaikan menggunakan standar McFarland, yang mengandalkan tingkat kekeruhan larutan sebagai indikator jumlah sel. Menurut Mahesh *et al.* (2025), standar McFarland dapat dikorelasikan secara linier dengan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 600 nm (OD600), sehingga memungkinkan estimasi konsentrasi bakteri secara cepat dan praktis menggunakan spektrofotometer. Meskipun bukan metode absolut, pendekatan ini dianggap konsisten dan efisien untuk penyiapan inokulum dalam studi patogenisitas *in vivo* (Mahesh *et al.*, 2025).

Larutan McFarland digunakan untuk menyetarakan konsentrasi bakteri dalam suspensi berdasarkan tingkat kekeruhan yang dihasilkan oleh campuran barium klorida 1% dan asam sulfat 1%. Campuran ini menghasilkan endapan barium sulfat yang menyebabkan kekeruhan sebanding dengan jumlah bakteri dalam suspensi. Setiap standar McFarland mewakili jumlah bakteri yang berbeda, dan digunakan sebagai acuan visual maupun melalui pengukuran absorbansi optik (OD) untuk menyesuaikan konsentrasi inokulum bakteri yang akan digunakan (Dalynn-Biologicals, 2014; Mahesh *et al.*, 2025).

Tabel 4 menunjukkan standar McFarland dari nomor 0,5 hingga 10, masing-masing dengan komposisi larutan dan perkiraan jumlah bakteri yang terkandung per mililiter. Misalnya, standar McFarland nomor 0,5 setara dengan konsentrasi bakteri sekitar $1,5 \times 10^8$ sel/mL, sedangkan standar nomor 1 mengandung sekitar $3,0 \times 10^8$ sel/mL. Semakin besar nomor standar, semakin tinggi pula konsentrasi bakteri yang direpresentasikan. Sebagai contoh, McFarland nomor 5 mengandung sekitar $1,5 \times 10^9$ sel /mL, sementara nomor 9 mengandung sekitar $2,7 \times$

10^7 sel /mL. Penyesuaian ini memungkinkan peneliti untuk menggunakan suspensi bakteri dengan konsentrasi yang terkontrol secara konsisten, baik dalam uji infeksi maupun uji antibakteri. Dalam penelitian ini, digunakan larutan McFarland nomor 1, 3, 5, 7, dan 9, masing-masing dengan konsentrasi bakteri yang berbeda. Larutan McFarland No. 1 memiliki konsentrasi sekitar 3×10^7 sel /mL, No. 3 setara dengan 1×10^8 sel /mL, No. 5 dengan $1,5 \times 10^8$ sel /mL, No. 7 dengan $2,1 \times 10^8$ sel /mL, dan No. 9 sekitar $2,5 \times 10^8$ sel /mL. Penggunaan berbagai standar ini memungkinkan peneliti untuk mengatur dosis infeksi bakteri secara konsisten dalam uji patogenisitas maupun uji in vitro lainnya, sekaligus meminimalkan variasi jumlah bakteri antar replikasi uji (Mahesh *et al.*, 2025).

Tabel 4. Komposisi Larutan McFarland dan Perkiraan Konsentrasi Bakteri (sel/mL) (Dalynn-Biologicals, 2014)

McFarland Standard	1% H ₂ SO ₄ (mL)	1% BaCl ₂ (mL)	Approximate Bacterial (sel /mL)
0.5	0.05	9.95	1.5×10^8
1.0	0.10	9.90	3.0×10^8
2.0	0.20	9.80	6.0×10^8
3.0	0.3	9.7	9.0×10^8
4.0	0.4	9.6	1.2×10^9
5.0	0.5	9.5	1.5×10^9
6.0	0.6	9.4	1.8×10^9
7.0	0.7	9.3	2.1×10^9
8.0	0.8	9.2	2.4×10^9
9.0	0.9	9.1	2.7×10^9
10.0	1.0	9.0	3.0×10^9

Setelah pembuatan larutan McFarland, larutan bakteri yang telah tumbuh diinokulasi dalam tabung reaksi dan kemudian diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Setiap larutan McFarland yang diuji menghasilkan kurva absorbansi yang berbeda, yang kemudian digunakan untuk menghitung konsentrasi bakteri pada larutan yang akan disuntikkan ke ikan, yaitu 3×10^7 CFU/mL, 3×10^5 CFU/mL, 3×10^3 CFU/mL dan 3×10^1 CFU/mL.

Grafik hubungan antara absorbansi dan konsentrasi bakteri disusun berdasarkan pengukuran absorbansi larutan bakteri yang dilakukan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm (Mira *et al.*, 2022). Pengukuran absorbansi ini bertujuan untuk memastikan kesesuaian antara nilai absorbansi dengan konsentrasi bakteri dalam larutan yang diuji. Berdasarkan data yang diperoleh, persamaan regresi linier dapat dihitung, yang memungkinkan perhitungan konsentrasi bakteri berdasarkan nilai absorbansi yang terukur. Persamaan regresi ini dapat dirumuskan sebagai $y = mx + b$, di mana y adalah absorbansi, x adalah logaritma konsentrasi bakteri, dan m serta b adalah konstanta regresi yang dihitung dari data grafik tersebut (Wacogne *et al.*, 2024). Dengan persamaan regresi ini, konsentrasi bakteri yang akan diinokulasi ke ikan dapat dihitung secara akurat berdasarkan pembacaan absorbansi yang terukur, yang memberikan cara yang efisien dan dapat diandalkan untuk penghitungan konsentrasi dalam eksperimen mikrobiologi. Pendekatan ini sesuai dengan metode yang dijelaskan dalam literatur sebelumnya, yang menyatakan bahwa menggunakan absorbansi sebagai indikator untuk konsentrasi bakteri merupakan teknik yang terbukti konsisten dan dapat diandalkan dalam penelitian mikrobiologi (Mira *et al.*, 2022).

Setelah konsentrasi bakteri dihitung, bakteri tersebut diencerkan dengan larutan fisiologis untuk memperoleh konsentrasi yang sesuai dengan yang diperlukan untuk inokulasi ikan. Konsentrasi bakteri yang diinokulasi pada ikan berkisar antara 3×10^1 hingga 3×10^7 CFU/mL, sesuai dengan perlakuan yang ditentukan dalam penelitian ini. Gejala klinis yang diamati pada ikan meliputi perubahan perilaku, kecerahan warna tubuh, muncul atau tidaknya luka pada tubuh, dan aktivitas pergerakan ikan. Pengamatan dilakukan secara rutin untuk mendeteksi tanda-tanda infeksi dan tingkat keparahan penyakit. Rerata Waktu Kematian (RWK) dihitung sebagai indikator tingkat virulensi isolat menggunakan rumus yang dikutip dari Olga (2013):

$$RWK = \frac{\sum_{i=1}^n a_i b_i}{\sum_{i=1}^n b_i}$$

Keterangan:

a = waktu kematian (hari); b = jumlah ikan yang mati (ekor)

Uji patogenisitas secara *in vivo* dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat *V. parahaemolyticus* dalam menyebabkan penyakit pada ikan bawal bintang (*T. blochii*). Tahapan-tahapan pada penelitian ini mengacu pada prinsip Postulat Koch yang terdiri atas empat kriteria, yaitu mikroorganisme harus ditemukan pada individu yang sakit, dapat diisolasi dalam media murni, mampu menimbulkan penyakit yang sama pada individu sehat, dan dapat diisolasi kembali dari individu yang terinfeksi. Prinsip ini telah digunakan secara luas dalam penelitian penyakit ikan, seperti pada ikan kerapu (Hastari *et al.*, 2014) dan lele (Resty *et al.*, 2013), serta pada media kultur yang terkontaminasi *Vibrio* (Rahmanto *et al.*, 2014). Dalam penelitian ini, isolat diuji secara *in vivo* dengan cara diinokulasikan secara intramuskular ke ikan sehat menggunakan suspensi bakteri dalam konsentrasi tertentu. Ikan uji diamati selama 7 hari untuk melihat timbulnya gejala klinis dan mortalitas

Dalam penelitian ini, keempat kriteria postulat Koch telah berhasil dipenuhi. Tahap pertama, yaitu keberadaan bakteri pada individu yang sakit, dibuktikan dengan pengambilan sampel dari ikan bawal bintang yang menunjukkan gejala klinis seperti perubahan warna, luka, dan kematian mendadak. Dari ikan-ikan tersebut, dilakukan tahap kedua berupa isolasi dan kultur bakteri pada media TCBS agar dan TSA, menghasilkan koloni dengan karakteristik morfologi khas *V. parahaemolyticus*. Tahap ketiga dipenuhi melalui uji patogenisitas secara *in vivo*, yaitu dengan menyuntikkan suspensi bakteri hasil kultur murni ke dalam tubuh ikan sehat, kemudian dilakukan pengamatan gejala klinis dan tingkat kematian selama 7 hari pasca inokulasi. Beberapa ikan

menunjukkan tanda-tanda infeksi serupa dengan gejala awal.

Selanjutnya, tahap keempat dilakukan dengan cara mengekropsi ikan yang terinfeksi dan mengambil organ dalam seperti ginjal dan hati untuk dilakukan re-isolasi. Bakteri hasil isolasi ulang yang tumbuh pada media menunjukkan morfologi koloni yang serupa dengan isolat awal. Dengan demikian, seluruh rangkaian pembuktian berdasarkan postulat Koch telah dilaksanakan secara lengkap dan mendukung bahwa isolat yang diuji merupakan agen penyebab penyakit pada ikan bawal bintang.

3.3.5. Uji Antibakteri

Uji antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram (*disk diffusion method*) untuk mengetahui efektivitas agen antibakteri terhadap isolat *V. parahaemolyticus*. Metode ini dilakukan dengan menanamkan isolat bakteri pada media Mueller-Hinton Agar (MHA) yang telah diinokulasikan secara merata menggunakan metode sebar (*spread plate*). Tiga isolat *V. parahaemolyticus* hasil isolasi dari ikan bawal bintang (*T. blochii*) digunakan sebagai bakteri uji. Sebelum dilakukan pengujian, isolat diremajakan dalam media Nutrient Broth dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28 °C.

Uji antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram pada media Mueller-Hinton Agar (MHA). Tiga jenis isolat bakteri diujikan terhadap empat jenis antibakteri, yaitu *enrofloxacin*, *tetrasiklin*, *oksitetrasiklin*, dan ekstrak jintan hitam. Untuk *enrofloxacin*, *tetrasiklin*, dan *oksitetrasiklin* digunakan cakram antibakteri siap pakai (*commercial antibiotic discs*) dengan konsentrasi sesuai standar *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Sementara itu, untuk ekstrak jintan hitam digunakan cakram kertas steril berdiameter 6 mm yang direndam dalam larutan ekstrak jintan hitam dengan konsentrasi 7500 ppm selama 15–30 menit. Cakram kemudian ditiriskan dan diletakkan secara aseptik di atas permukaan media yang telah diinokulasi dengan suspensi bakteri uji (standar kekeruhan 0,5 *McFarland*).

Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Linianti *et al.* (2017), konsentrasi 7500 ppm (0,75%) terbukti paling efektif menghambat pertumbuhan *V. harveyi*, yang masih satu genus dengan *V. parahaemolyticus*. Penelitian serupa oleh Wadud (2014) dan Dontriska *et al.* (2014) juga menunjukkan bahwa konsentrasi tinggi (≥ 5000 ppm) dari ekstrak jintan hitam memiliki daya hambat signifikan terhadap bakteri Gram negatif seperti *Shigella dysenteriae* dan *Aeromonas hydrophila*

Seluruh cakram diletakkan secara merata pada permukaan media menggunakan pinset steril. Setiap perlakuan dilakukan dalam tiga ulangan. Cawan diinkubasi pada suhu 35–37°C selama 18–24 jam. Aktivitas antibakteri ditentukan berdasarkan ukuran diameter zona hambat (dalam mm) yang terbentuk di sekitar cakram, diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm). *Disk diffusion* merupakan metode yang banyak digunakan untuk mengukur sensitivitas antibakteri mikroorganisme. Untuk meningkatkan kecepatan uji ini, pengujian dengan waktu inkubasi yang lebih singkat telah diuji pada beberapa penelitian. Webber *et al.* (2022) menunjukkan bahwa pengujian *disk diffusion* dengan inkubasi dapat menghasilkan hasil yang akurat.

Penentuan nilai LD_{50} (*Lethal Dose 50*) dilakukan untuk mengetahui konsentrasi bakteri *V. parahaemolyticus* yang menyebabkan kematian 50% dari populasi ikan uji. Ikan uji diinokulasi secara intraperitoneal dengan suspensi bakteri pada lima tingkatan konsentrasi, yaitu 3×10^1 , 3×10^2 , 3×10^3 , 3×10^4 , dan 3×10^5 CFU/mL. Masing-masing konsentrasi diberikan pada tiga ekor ikan dan diamati selama 7 hari. Jumlah ikan yang mati pada setiap kelompok dicatat untuk perhitungan LD_{50} . Nilai LD_{50} dihitung menggunakan metode Reed and Muench dengan persamaan sebagai berikut:

$$\log LD_{50} = \log D_1 + \left(\frac{50 - P_1}{P_2 - P_1} \right) X (\log D_2 - \log D_1)$$

Keterangan:

D_1 = dosis yang menyebabkan persentase kematian di bawah 50%

D_2 = dosis yang menyebabkan persentase kematian di atas 50%

P_1 = persentase kematian pada dosis D_1

P_2 = persentase kematian pada dosis D_2

Nilai LD_{50} dihitung menggunakan metode Reed and Muench. Analisis dilakukan dengan mencatat jumlah kematian ikan uji pada masing-masing perlakuan dosis bakteri selama periode pengamatan, lalu menghitung persentase kematian untuk setiap dosis. Setelah itu, ditentukan dua konsentrasi yang mengapit angka 50% kematian, yaitu satu dosis yang menghasilkan kematian di bawah 50% dan satu dosis yang menghasilkan kematian di atas 50%. Selanjutnya, digunakan rumus perhitungan logaritmik untuk menentukan nilai $\log LD_{50}$ berdasarkan selisih persentase kematian dan dosis. Nilai $\log LD_{50}$ yang diperoleh kemudian dikonversi kembali menjadi nilai LD_{50} aktual dalam satuan CFU/mL dengan menghitung antilog.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

5.1.1 Karakterisasi *Vibrio parahaemolyticus*

Penelitian ini berhasil mengkarakterisasi *V. parahaemolyticus* melalui isolasi menggunakan CHROMagar Vibrio, konfirmasi PCR dengan amplifikasi gen *toxR* (368 bp), dan penapisan hemolitik menggunakan Blood Agar Plate (BAP). Karakterisasi morfologi menunjukkan koloni berwarna krem atau putih susu dengan bentuk bulat. Uji biokimia (API 20E) menunjukkan kemampuan fermentasi glukosa, mannitol, dan sukrosa. Patogenisitas *in vivo* pada ikan bawal bintang menunjukkan gejala lesu, peradangan sirip, dan perdarahan, yang mengonfirmasi bahwa *V. parahaemolyticus* menyebabkan vibriosis.

5.1.2 Efektivitas Antibakteri

Enrofloxacin paling efektif menghambat *V. parahaemolyticus*, diikuti tetrasiklin dan oksitetrasiklin. Ekstrak jintan hitam kurang efektif sebagai antibakteri alami dan lebih rendah dibanding antibakteri komersial.

5.2. Saran

Penelitian lanjutan sebaiknya fokus pada pengembangan ekstrak jintan hitam sebagai antibakteri alami, mengeksplorasi mekanisme resistensi *V. parahaemolyticus*, dan menggunakan PCR untuk deteksi cepat. Selain itu, pengembangan pengobatan alternatif seperti probiotik atau bahan alami lainnya penting untuk mengurangi ketergantungan pada antibakteri kimia.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Aboyadak, I. and Ali, N. G. 2024. Enrofloxacin, effective treatment of *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterococcus faecalis* infection in *Oreochromis niloticus*. *Microorganisms*, 12(5), 901.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms12050901>.
- Ahmad, A., Husain, A., Mujeeb, M., Khan, S. A., Najmi, A. K., Siddique, N. A., Damanhour, Z. A. and Anwar, F. 2013. A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(5), 337–352.
[https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60075-1](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60075-1).
- Aly, S. M., ElBanna, N. I., Elatta, M. A., Hegazy, M., and Fathi, M. 2023. Prevalence, molecular typing, antibiogram and histopathological changes of *V. harveyi* and *V. parahaemolyticus* isolated from Gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture and Fisheries*, 10(4), 281–288. DOI: 10.1016/j.aaf.2023.11.002
- Apriani, Bintari, N. W. D., Ilsa, N. A., Istyanto, F., Suhartati, R., Dewi, R. K., Zuraida, H., Inggraini, M., Pratami, S., Nur, J., Setiawan, D., Wijayanti, D. R. dan Safari, W. F. 2023. *Bakteriologi untuk mahasiswa kesehatan*. PT. Masagena Mandiri Medica.
- Ariyanti, A., Masruriati, E., Setyowati, D. and Nurulita, F. M. 2022. Ylang Flower Gel Antifungal Effectiveness. *Indonesian Journal of Global Health Research*, 4(2), 385–392.
<https://doi.org/10.37287/ijghr.v4i2.1186>
- Artati, D. and Oman, M. 2020. Identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* menggunakan metode konvensional dan alat identifikasi otomatis (API 20E). *Jurnal Biotropika*, 8(1), 10–16.

- Azuar, Tengku, S.R. dan Miranti, S. 2019. Identifikasi prevalensi dan intensitas ektoparasit pada ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*) di lokasi budidaya Kota Tanjungpinang. *Intek Akuakultur*, 3(1): 66–79. E-ISSN 2579-6291.
- Azzahra, S.C., Effendy, Y. dan Slamet, S. 2021. Isolasi dan karakterisasi bakteri pemacu pertumbuhan tanaman (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) asal tanah Desa Akar-Akar, Lombok Utara. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*, 6(2), 70-75. <https://doi.org/10.36722/sst.v6i2.662>.
- Bacian, C., Verdugo, C., García, K., Perez-Larruscain, J., de-Blas, I., Cachicas, V. and Lopez-Joven, C. 2021. Longitudinal study of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* (tdh⁺ and/or trh⁺) in two natural extraction areas of *Mytilus chilensis* in Southern Chile. *Frontiers in Microbiology*, 12, 621737. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.621737>.
- Bailey, R. 2024. *Phases of the bacterial growth curve*. ThoughtCo. Diakses 21 Juni 2025. <https://www.thoughtco.com/bacterial-growth-curve-phases-4172692>
- Beshiru, A. and Igbinosa, E.O. 2023. Surveillance of *Vibrio parahaemolyticus* pathogens recovered from ready-to-eat foods. *Scientific Reports*, 13, 4186. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31359-4>.
- bioMérieux. 2002. API® & ID 32: Identification databases. *bioMérieux*. <https://www.biomerieux.com>
- bioMérieux. 2010. Identification system for Enterobacteriaceae and other non-fastidious Gram-negative rods: API 20 E. *bioMérieux SA*. <https://www.biomerieux.com>.
- Bonnet, M., Lagier, J.C. and Raoult, D. 2020. Bacterial culture through selective and non-selective conditions: the evolution of culture media in clinical microbiology. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00001>.

- Bush, K. and Bradford, P.A. 2016. β -Lactams and β -Lactamase inhibitors: an overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(8), a025247. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025247>
- Cahyanurani, A.B., Syofriani, D.M. dan Harijono, T. 2022. Performa pembenihan dan pemeliharaan larva ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*) di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung. *Jurnal Perikanan Pantura*, 5(2), 179-194. <https://doi.org/10.1234/jpp.v5i2.4364>.
- Chopra, I. and 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. <https://doi.org/10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001>
- Dalynn-Biologicals. 2014. *McFarland Standard – For In Vitro Use Only, Catalogue No. TM50–TM60*. Revised October 2014.
- del-Peso-Santos, T., Alvarez, L., Sit, B., Irazoqui, O., Blake, J., Warner, B. R., Kwark, A.R., Bala, A., Benes, V., Waldor, M.K., Fredrick, K. and Cava, F. 2021. BipA exerts temperature-dependent translational control of biofilm-associated colony morphology in *Vibrio cholerae*. *eLife*, 10: e60607. <https://doi.org/10.7554/eLife.60607>
- Dontriska, D., Sasanti, A.D. dan Yulisman. 2014. Efektivitas tepung jintan hitam (*Nigella sativa*) untuk mencegah infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan patin. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 2(2), 188–201
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.02.008>
- Ezeamagu, C.E., Garuba, M. and Osisami, T.F. 2024. Identification of *Vibrio cholerae* using Analytical Profile Index (API 20E). *International Journal of Research and Scientific Innovation*, 9(5), 108–111. <https://doi.org/10.36079/lamintang.ijrsi-9.5.108>
- FAO. 2016. *Cultured aquatic species information programme: Trachinotus blochii*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Diakses dari http://mariculturetechnology.com/wp-content/uploads/2019/07/FAO_2016_Cultured_Aquatic_Species_Information_Programme_Trachinotus.pdf.

- Fernández-Vélez, I., Bidegain, G. and Ben-Horin, T. 2023. Predicting the growth of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters under varying ambient temperature. *Microorganisms*, 11(5): 1169. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11051169>
- Guo, Y., Yang, B., Zhou, X., Gong, Z., Wang, E., Pan, Y., Zhao, Y. and Liu, H. 2025. Proteomic analysis reveals the phenotypic heterogeneity and tolerance mechanisms of halophilic *Vibrio parahaemolyticus* under dual stress of low salinity and bile salts in the human intestine. *Biomolecules*, 15(4), 518. <https://doi.org/10.3390/biom15040518>.
- Guin, S., Saravanan, M., Anjay, Prasad, K., Chowdhury, G., Pazhani, G. P., Ramamurthy, T. and Das, S.C. 2019. Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in diarrhoeal patients, fish, and aquatic environments and their potential for inter-source transmission. *Heliyon*, 5, e01743. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01743>.
- Handayani, P., Akhrianti, I. dan Putro, D.H. 2021. Teknik pensortiran benih ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*) di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung. *Aquatic Science*, 3(1), 21–29. Diakses dari <https://journal.ubb.ac.id/aquaticscience/article/view/3027>
- Hastari, I.F., Sarjito dan Prayitno, S.B. 2014. Karakterisasi agensia penyebab vibriosis dan gambaran histologi ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dari karamba jaring apung Teluk Hurun Lampung. *Jurnal Aquaculture Management and Technology*, 3(3), 86–94.
- Herlina, E., Widiastuti, D. dan Triadi, A. 2020. Potensi Minyak Atsiri Bunga Kenanga (*Cananga odorata*) sebagai Antibakteria dalam Sediaan Hand Sanitizer Gel. *Ekologia: Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan*, 20(2), 88–94. <https://doi.org/10.33751/ekologia.v20i2.2171>.
- Herman, E.K., Lacoste, S.R., Freeman, C.N., Otto, S.J., McCarthy, E.L., Links, M.G., Stothard, P. and Waldner, C.L. 2024. Bacterial enrichment prior to third-generation metagenomic sequencing improves detection of BRD pathogens and genetic determinants of antimicrobial resistance in feedlot cattle. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1386319. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1386319>

- Hikmawati, F., Susilowati, A. and Setyaningsih, R. 2019. Colony morphology and molecular identification of *Vibrio* spp. on green mussels (*Perna viridis*) in Yogyakarta, Indonesia tourism beach areas. *Biodiversitas*, 20(10), 2891-2899. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d201015>.
- Hirshfeld, B., Lavelle, K., Lee, K.Y., Atwill, E.R., Kiang, D., Bolkenov, B., Gaa, M., Li, Z., Yu, A., Li, X. and Yang, X. 2023. Prevalence and antimicrobial resistance profiles of *Vibrio* spp. and *Enterococcus* spp. in retail shrimp in Northern California. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1192769. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1192769>
- Ihsan, B. 2021. Identifikasi bakteri patogen (*Vibrio* spp. dan *Salmonella* spp.) yang mengontaminasi ikan layang dan bandeng di pasar tradisional. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(1), 89-96
- Istikomah, Setyawan, A., Adiputra, Y.T., Supono dan Sarida, M. 2023. Diversitas ektoparasit pada ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*) budi daya di Teluk Lampung. *Journal of Tropical Marine Science*, 6(1): 31–37. <https://doi.org/10.33019/jour.trop.mar.sci.v6i1.3809>.
- Kalidas, C., Kumar, P.R., Prabu, D.L., Tamilmani, G., Anbarasu, M., Rajendran, P. and Thiagu, R. 2020. Optimizing stocking density for grow-out culture of silver pompano *Trachinotus blochii* (Lacépède, 1801) in marine floating cages. *Journal of Applied Aquaculture*, 34(1), 223–233. <https://doi.org/10.1080/10454438.2020.1829245>
- Kaysner, C.A., DePaola, A. and Jones, J. 2004. Bacteriological Analytical Manual (BAM) chapter 9: *Vibrio*. *U.S. Food and Drug Administration*. Diakses dari <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-9-vibrio>.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2017. *Petunjuk teknis pembesaran Bawal Bintang (Trachinotus blochii) di Karamba Jaring Apung*. Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2023. *Peraturan Direktur Jenderal Perikanan Budidaya Nomor 440 Tahun 2023 tentang Pedoman Teknis Surveilans Resistansi Antimikroba*. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya.

- Kim, Y.B., Okuda, J., Matsumoto, C., Takahashi, N., Hashimoto, S. and Nishibuchi, M. 1999. Identification of *Vibrio parahaemolyticus* strains at the species level by PCR targeted to the *toxR* gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(4), 1173–1177.
- Kusumaningsih, P., Mustika, I.G. and Wasita, R.R. 2021. Evaluation of API 20E system for identification of bacterial gram-negative isolates from Kawakawa brine salting. *Seminar Nasional Bioteknologi VII*, 223–229. Diakses dari https://www.researchgate.net/publication/362707073_Evaluation_of_API_20E_System_for_Identification_of_Bacterial_Gram-negative_Isolates_from_Kawakawa_Brine_Salting
- Lee, J.M., Azizah, R.N. and Kim, K.S. 2020. Comparative evaluation of three agar media-based methods for presumptive identification of seafood-originated *Vibrio parahaemolyticus* strains. *Food Control*, 116, 107308. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107308>
- Lindholm-Lehto, P.C. and Pylkkö, P. 2024. Saprolegniosis in aquaculture and how to control it? *Aquaculture, Fish and Fisheries*, 4, e2200. <https://doi.org/10.1002/aff2.200>.
- Linianti, I., Nur, I., Maulidiyah dan Yusnaini. 2017. Potensi ekstrak etanol biji jintan hitam (*Nigella sativa*) untuk pengendalian bakteri *Vibrio harveyi* penyebab penyakit pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Sains dan Inovasi Perikanan*, 1(1), 25–29. <https://doi.org/10.33772/jspi.v1i1.xxxx>.
- Lusti, N.F., Pratiwi, N., Musaidah, S., Audina, R.I., Atwiyandani, I., Dhianson, A.D. dan Mukaromah, A.H. 2024. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana jintan hitam (*Nigella sativa*) dengan variasi pelarut dan waktu maserasi. *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS*, 7, 1–8.
- Lydon, K.A., Kinsey, T., Le, C., Gulig, P.A. and Jones, J. L. 2021. Biochemical and virulence characterization of *Vibrio vulnificus* isolates from clinical and environmental sources. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 637019. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.637019>

- Manchanayake, T., Salleh, A., Amal, M.N.A., Yasin, I.S.M. and Zamri-Saad, M. 2023. Pathology and pathogenesis of *Vibrio* infection in fish: a review. *Aquaculture Reports*, 28, 101459. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101459>.
- Mahesh, P.P., Kolape, J., Sultana, H. and Neelakanta, G. 2025. McFarland standards-based spectrophotometry method for calculating approximate multiplicity of infection for an obligate intracellular bacterium *Anaplasma phagocytophilum*. *Microorganisms*, 13(3), 662. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13030662>
- Manalu, R.T. 2017. Isolasi dan karakterisasi bakteri pendegradasi hidrokarbon asal Indonesia. *Sainstech: Jurnal Penelitian dan Pengkajian Sains dan Teknologi*, 10(2), 23-30
- Mangunwardoyo, W., Ismayasari, R. dan Riani, E. 2010. Uji patogenisitas dan virulensi *Aeromonas hydrophila* stanier pada ikan nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) melalui Postulat Koch. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 9(1), 7–16.
- Manju, S., Malaikozhundan, B., Boonsirm, W. and Vaseeharan, B. 2016. Essential oils of *Nigella sativa* protects *Artemia* from the pathogenic effect of *Vibrio parahaemolyticus* Dahv2. *Journal of Invertebrate Pathology*. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2016.03.004>.
- Mary, T.R.J., Kannan, R.R., Iniyan, A. M., Ramachandran, D. and Vincent, S.G.P. 2021. Cell wall distraction and biofilm inhibition of marine *Streptomyces* derived angucycline in methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbial Pathogenesis*, 150, 104712. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104712>
- Mira, P., Yeh, P. and Hall, B.G. 2022. Estimating microbial population data from optical density. *Plos One*, 17(10), e0276040. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276040>
- Mok, J.S., Cho, S.R., Park, Y.J., Jo, M.R., Ha, K.S., Kim, P.H. and Kim, M.J. 2021. Distribution and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from fish and shrimp aquaculture farms along the Korean coast. *Marine Pollution Bulletin*, 171, 112785. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112785>

- Muahiddah, N. and Diniariwisan, D. 2024. The potential of black cumin (*Nigella sativa*) as an immunostimulant in aquaculture (review). *Jurnal Biologi Tropis*, 24(2), 112–120.
- Novisa, E., Tarsim dan Harpeni, E. 2015. Pengaruh jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap histopatologi organ kakap putih (*Lates calcarifer*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* secara buatan. *e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, 3(2), 89–98.
- Novriadi, R., Ibtisam, Ogello, E.O., Agusnar, H., Willis, S. and Haw, K.B. 2014. AquaHerb conditioners: the silver bullet for asian seabass *Lates calcarifer* and silver pompano *Trachinotus blochii* protection against vibriosis. *International Journal of Advanced Research*, 2(7), 275–284. <https://doi.org/10.33772/ijar.v2i7.5468>
- Olga. 2013. Patogenisitas bakteri *Aeromonas hydrophila* ASB01 pada ikan gabus (*Ophicephalus striatus*). *Sains Akuatik*. 14(1): 33–39.
- Orozco-Ochoa, A.K., González-Gómez, J.P., Castro-del-Campo, N., Lira-Morales, J.D., Martínez-Rodríguez, C.I., Gomez-Gil, B. and Chaidez, C. 2023. Characterization and genome analysis of six novel *Vibrio parahaemolyticus* phages associated with acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Virus Research*, 323, 198973. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2022.198973>
- Özcan, F. and Arserim, N.B. 2022. Fungal diseases in fish. *Black Sea Journal of Agriculture*, 5(1), 48-52. <https://doi.org/10.47115/bsagriculture.983345>
- Rahmanto, S.P., Sarjito dan Chilmawati, D. 2014. Karakterisasi dan uji postulat Koch bakteri genus *Vibrio* yang berasal dari media kultur massal mikroalga. *Jurnal Aquaculture Management and Technology*, 3(4), 230–237.
- Rakotovao-Ravahatra, Z.D., Rahajamanana, L., Rakotondraaelina, L., Raskine, L., Rasoanandrasana, S., Rafalimanana, C., Rakotomalala, R., Rakotoarisoa, A.M., Andriambelo, L.V., Tantelinirimirana, H., Fenomanana, J., Rakotoniaina, I., Ravaoarisaina, Z., Razafindrakoto, A. C., Ramavoson, T., Ramaminiaina, E., Randrianary, H., Razafinikasa, A. T., Ravelomandranto, J.E. and Rakotovao, A.L. 2021. Comparison of Bis NEG-D and API 20E for the identification of

gram-negative bacilli in the laboratory of the University Hospital of Befelatanana, Antananarivo, Madagascar. *European Journal of Biology and Biotechnology*, 2(5), 76-80.
<https://doi.org/10.24018/ejbio.2021.2.5.286>

Resty, A., Sarjito dan Prayitno, S.B. 2013. Identifikasi dan uji postulat Koch agensia penyebab penyakit bakteri pada ikan lele (*Clarias gariepinus*) yang berasal dari Demak. *Jurnal Aquaculture Management and Technology*, 2(2), 10–19.
<https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/jamt/article/view/93478>

Rifai, A.B., Gede, A.A., Kusuma, L.P.P. dan Maulani, Y. 2019. Deteksi spesies *Megalocytivirus* pada budidaya ikan laut di Kepulauan Riau. *Jurnal Penyuluhan Perikanan dan Kelautan*, 13(3), 265-274.
<https://doi.org/10.33378/jppik.v13i3.127>.

Risna, Y.K., Sri-Harimurti, W., Wihandoyo dan Widodo. 2022. Kurva pertumbuhan isolat bakteri asam laktat dari saluran pencernaan itik lokal asal Aceh. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 24(1), 1–7.
<https://doi.org/10.25077/jpi.24.1.1-7.2022>.

Ryant, A.S. dan Maimunah, S. 2019. Uji antibakteri bagian minyak dan air destilat bunga kenanga (*Cananga odorata*) terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan kesetaraannya pada tetrasiklin HCl. *Jurnal Ilmu Farmasi Indonesia*, 17(2), 68–73.

Sa'adah, R., Sasanti, A.D. dan Taqwa, F.H. 2015. Aplikasi tepung jintan hitam (*Nigella sativa*) untuk pencegahan infeksi bakteri *Streptococcus agalactiae* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 3(1), 58–69.

Seychelles Mariculture Master Plan. 2019. *Snubnose pompano (Trachinotus blochii)*. Diakses dari
<https://seychellesaquaculture.com/wp-content/uploads/2021/10/Snubnose-pompano-Trachinotus-blochii.pdf>.

Sheikh, H.I., Najiah, M., Fadhlina, A., Laith, A.A., Nor, M.M., Jalal, K.C.A. dan Kasan, N.A. 2022. Temperature upshift mostly but not always enhances the growth of *Vibrio* Species: a systematic review. *Frontiers in Marine Science*, 9, 959830.
<https://doi.org/10.3389/fmars.2022.959830>

- Siddique, A.B., Moniruzzaman, M., Ali, S., Dewan, M.N., Islam, M.R., Islam, M.S., Amin, M.B., Mondal, D., Parvez, A.K. and Mahmud, Z.H. 2021. Characterization of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* isolated from fish aquaculture of the southwest coastal area of Bangladesh. *Frontiers in Microbiology*, 12, 635539. [https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.635539:contentReference\[oaicite:0\]{index=0}](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.635539:contentReference[oaicite:0]{index=0}).
- Silvia, M.P., Supriya dan Bidayani, E. 2024. Pembenihan ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*) di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut, Lampung. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 1(3), 12-25.
- Siregar, T., Hendra, B. dan Syafitri, E. 2021. Isolasi dan identifikasi *Vibrio parahaemolyticus* pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) penyebab penyakit vibriosis. *Jurnal Aquaculture Indonesia*, 1(1), 7-14. <https://doi.org/10.1234/jai.2021.0001>
- Su, Y.C., Duan, J. dan Wu, W.H. 2005. Selectivity and specificity of a chromogenic medium for detecting *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Food Protection*, 68(7), 1454–1456. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.7.1454>
- Sulistiawati, F. dan Radji, M. 2020. Potensi pemanfaatan *Nigella sativa* L. sebagai imunomodulator dan antiinflamasi. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*, 7(2), 65–74.
- Sun, J., Li, X., Hu, Z., Xue, X., Zhang, M., Wu, Q., Zhang, Y. and Lu, R. 2022. Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from stool specimens of diarrhea patients in Nantong, Jiangsu, China during 2018–2020. *Plos One*, 17(8), e0273700. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0273700>
- Sun, Y., Yan, Y., Yan, S., Li, F., Li, Y., Yan, L., Yang, D., Peng, Z., Yang, B., Sun, J., Xu, J., Dong, Y. and Bai, Y. 2024. Prevalence, antibiotic susceptibility, and genomic analysis of *Vibrio alginolyticus* isolated from seafood and freshwater products in China. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1381457. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1381457>.
- Suresh-Babu, P.P., Anuraj, A., Shilta, M.T., Ebeneezar, S., Shinoj, P., Ramudu, K.R., Praveen, N.D., Vaidya, N.G., Pal, M., Boby, I., Anikuttan, K.K., and Gopalakrishnan, A. 2023. Compensatory growth

and production economics of silver pompano, *Trachinotus blochii* (Lacepede, 1801), fingerlings stunted by feed and space deprivation. *Frontiers in Marine Science*, 10: 1234667. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1234667>

Thaotumpitak, V., Odoi, J.O., Anuntawirun, S. and Jeamsripong, S. 2024. Meta-analysis and systematic review of phenotypic and genotypic antimicrobial resistance and virulence factors in *Vibrio parahaemolyticus* isolated from shrimp. *Antibiotics*, 13(4), 370. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13040370>.

Ughy, B., Bajusz, I., Baranyai, Z. and Papp, T. 2023. Bacterial growth and stress response: dynamics of the growth curve and gene regulation. *Cells*, 12(11), 1430. <https://doi.org/10.3390/cells12111430>

Van Gray, J. (n.d.). *Microbiology lab SP25*. The Ohio State University. Retrieved May 22, 2025, from https://libretexts.org/Courses/Ohio_State_University/Microbiology_Lab_SP25.

Wacogne, B., Belinger Podevin, M., Vaccari, N., Koubevi, C., Codjiová, C., Gutierrez, E., Davoine, L., Robert-Nicoud, M., Rouleau, A. and Frelet-Barrand, A. 2024. Concentration vs. optical density of escapee bacteria: a method to determine the optimum measurement wavelength. *Sensors*, 24(24), 8160. <https://doi.org/10.3390/s24248160>

Wadud, S.A. 2014. *Uji efektivitas ekstrak biji jintan hitam (Nigella sativa) terhadap pertumbuhan bakteri Shigella dysenteriae*. Skripsi. Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.

Webber, D.M., Wallace, M.A. and Burnham, C.D. 2022. Stop waiting for tomorrow: disk diffusion performed on early growth is an accurate method for antimicrobial susceptibility testing with reduced turnaround time. *Journal of Clinical Microbiology*, 60(5), e0300720. <https://doi.org/10.1128/JCM.03007-20>

Wessel, A.J., Johnson, D.T.T. and Waters, C.M. 2025. "DNA repair is essential for *Vibrio cholerae* growth on thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose (TCBS) medium." *Journal of Bacteriology*, 207(4), e0000425. DOI: 10.1128/jb.00004-25.

- Yang, F., Yang, F., Wang, D., Zhang, C.S., Wang, H., Song, Z.W., Shao, H.T., Zhang, M., Yu, M.L. and Zheng, Y. 2021. Development and application of a water temperature related physiologically based pharmacokinetic model for enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in rainbow trout. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 608348. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.608348>
- Yulian, C.R., Susilowati, F. dan Amal, A.S.S. 2020. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan ekstrak air biji habbatussauda (*Nigella sativa*). *Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*, 4(1), 1–7.
- Zaher, H.A., Nofal, M.I., Hendam, B.M., Elshaer, M.M., Alothaim, A.S. and Eraqi, M.M. 2021. Prevalence and antibiogram of *Vibrio parahaemolyticus* and *Aeromonas hydrophila* in the flesh of Nile tilapia, with special reference to their virulence genes detected using multiplex PCR technique. *Antibiotics*, 10(6), 654. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10060654>.
- Zhang, P., Wu, X., Ji, L., Yan, W., Chen, L., Lu, Z., Xu, D., Zha, Y., Xu, D., and Dong, F. 2024. Prevalence and virulence of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from clinical and environmental samples in Huzhou, China. *BMC Genomics*, 25, 1187. <https://doi.org/10.1186/s12864-024-11106-3>
- Zhou, K., Tian, K.Y., Liu, X.Q., Liu, W., Zhang, X.Y., Liu, J.Y. and Sun, F. 2021. Characteristic and otopathogenic analysis of a *Vibrio alginolyticus* strain responsible for chronic otitis externa in China. *Frontiers in Microbiology*, 12, 750642. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.750642>.
- Zhu, Q., Chen, X., Liu, Y., Wang, R., Chen, J. and Chen, Y. 2020. Virulence, antimicrobial susceptibility, molecular and epidemiological characteristics of a new serotype of *Vibrio parahaemolyticus* from diarrhea patients. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2025. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02025>