

**HUBUNGAN KEBERADAAN GEN RESISTANSI ANTIMIKROBA  
(*Antimicrobial Resistance Gene, ARG*) GOLONGAN  $\beta$ -LAKTAM DAN  
FENOTIPE RESISTANSINYA PADA BAKTERI *Vibrio parahaemolyticus***

**(Skripsi)**

**Oleh**

**Alya Lintang Kholilah  
2117021082**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2025**

**HUBUNGAN KEBERADAAN GEN RESISTANSI ANTIMIKROBA  
(*Antimicrobial Resistance Gene, ARG*) GOLONGAN  $\beta$ -LAKTAM DAN  
FENOTIPE RESISTANSINYA PADA BAKTERI *Vibrio parahaemolyticus***

**Oleh**

**ALYA LINTANG KHOLILAH**

**Skripsi**

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

**Pada  
Jurusen Biologi**

**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2025**

## ABSTRAK

### HUBUNGAN KEBERADAAN GEN RESISTANSI ANTIMIKROBA (*Antimicrobial Resistance Gene, ARG*) GOLONGAN $\beta$ -LAKTAM DAN FENOTIPE RESISTANSINYA PADA BAKTERI *Vibrio parahaemolyticus*

Oleh

ALYA LINTANG KHOLILAH

*Vibrio parahaemolyticus* merupakan bakteri patogen oportunistik yang sering ditemukan di perairan budi daya udang vannamei dan berpotensi menimbulkan penyakit pada hewan maupun manusia. Penggunaan antibiotik  $\beta$ -laktam untuk mengendalikan infeksi dapat memicu resistansi, salah satunya melalui keberadaan gen penyandi  $\beta$ -laktamase seperti *ampC* dan *blaTEM*. Penelitian ini bertujuan menganalisis hubungan antara profil fenotipe resistansi  $\beta$ -laktam dengan keberadaan gen *ampC* dan *blaTEM* pada *V. parahaemolyticus*. Sebanyak 42 isolat diperoleh dari udang dan lingkungan budi daya, kemudian diuji fenotipe resistansinya menggunakan metode difusi cakram terhadap enam antibiotik  $\beta$ -laktam, serta dilakukan deteksi gen resistansi dengan PCR konvensional. Hasil menunjukkan bahwa resistansi hanya ditemukan pada antibiotik *ampicillin*, dengan 33 isolat resistan, 3 isolat *intermediate*, dan 6 isolat sensitif. Untuk antibiotik lain (*amoxicillin-clanuvate acid*, *cefotaxime*, *ceftazidime*, dan *meropenem*), seluruh isolat tergolong sensitif. Analisis genotipe mendeteksi gen *ampC* pada 13 isolat, sementara gen *blaTEM* tidak terdeteksi. Beberapa isolat yang membawa gen *ampC* tidak menunjukkan resistansi fenotipik, yang mengindikasikan adanya *silent gene* atau mekanisme lain di luar keberadaan gen tersebut. Penelitian ini menegaskan bahwa resistansi fenotipik  $\beta$ -laktam pada *V. parahaemolyticus* terutama ditunjukkan terhadap ampicilin, dan keberadaan gen *ampC* tidak selalu berbanding lurus dengan pola resistansi yang muncul. Temuan ini penting sebagai dasar pengelolaan penggunaan antibiotik di sektor perikanan serta pencegahan penyebaran resistansi antimikroba yang berpotensi membahayakan kesehatan manusia.

**Kata kunci:** *Vibrio parahaemolyticus*,  $\beta$ -laktam, resistansi antibiotik.

## **ABSTRACT**

### **RELATIONSHIP BETWEEN THE PRESENCE OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE GENES OF THE $\beta$ -LACTAM GROUP AND THEIR RESISTANCE PHENOTYPES IN *Vibrio parahaemolyticus* BACTERIA**

**By**

**ALYA LINTANG KHOLILAH**

*Vibrio parahaemolyticus* is an opportunistic pathogen commonly found in *vannamei* shrimp aquaculture waters and has the potential to cause disease in both animals and humans. The use of  $\beta$ -lactam antibiotics to control infection can trigger resistance, one of which is through the presence of  $\beta$ -lactamase-encoding genes such as *ampC* and *blaTEM*. This study aimed to analyze the relationship between  $\beta$ -lactam resistance phenotype profiles and the presence of *ampC* and *blaTEM* genes in *V. parahaemolyticus*. A total of 42 isolates were obtained from shrimp and aquaculture environments, then tested for resistance phenotypes using the disc diffusion method against six  $\beta$ -lactam antibiotics, and resistance genes were detected using conventional PCR. The results showed that resistance was only found in ampicillin, with 33 resistant isolates, 3 intermediate isolates, and 6 sensitive isolates. For other antibiotics (amoxicillin-clanuvaate acid, cefotaxime, ceftazidime, and meropenem), all isolates were classified as sensitive. Genotype analysis detected the *ampC* gene in 13 isolates, while the *blaTEM* gene was not detected. Several isolates carrying the *ampC* gene did not show phenotypic resistance, indicating the presence of silent genes or other mechanisms beyond the existence of these genes. This study confirms that phenotypic  $\beta$ -lactam resistance in *V. parahaemolyticus* is primarily demonstrated against ampicillin, and the presence of the *ampC* gene does not always correlate with the resistance pattern that emerges. This finding is important as a basis for managing antibiotic use in the fisheries sector and preventing the spread of antimicrobial resistance, which has the potential to endanger human health.

**Keywords:** *Vibrio parahaemolyticus*,  $\beta$ -lactam, antibiotic resistance

## HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Hubungan Keberadaan Gen Resistansi Antimikroba  
(*Antimicrobial Resistance Gene, ARG*) Golongan  $\beta$ -laktam dan  
Fenotipe Resistansinya pada Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Nama Mahasiswa : Alya Lintang Khosilah

NPM : 2117021082

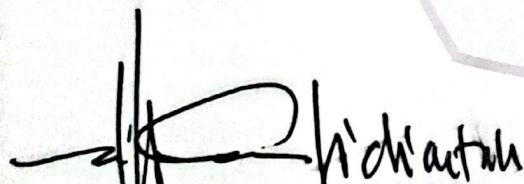
Jurusan/Program Studi : Biologi/S1-Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

### MENYETUJUI

#### 1. Komisi Pembimbing

Pembimbing 1



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

Pembimbing 2



Yan Evan, S.Pi., M.Si.  
NIP. 198705252010121002

#### 2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA UNILA

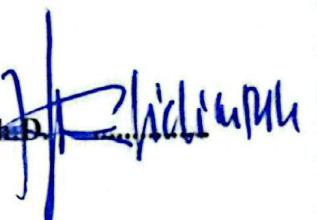


Dr. Jati Master S.Si., M.Si.  
NIP. 198301312008121001

## MENGESAHKAN

### 1. Tim Penguji

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



Anggota Penguji : Yan Evan, S.Pi., M.Si.



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



### 2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 11 Desember 2025

## **SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Alya Lintang Kholilah  
NPM : 2117021082  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul:

*“Hubungan Keberadaan Gen Resistansi Antimikroba (*Antimicrobial Resistance Gene*, ARG) Golongan β-laktam dan Fenotipe Resistansinya pada Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*”*

Baik data, hasil analisis dan kajian ilmiah adalah benar hasil karya yang saya susun sendiri dengan berpedoman pada etika akademik dan penulisan yang berlaku. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenarnya untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Bandarlampung, 12 Desember 2025

.....  
yatakan,  
  
.....  
Alya Lintang Kholilah

NPM. 2117021082

## **RIWAYAT HIDUP**



Penulis bernama lengkap Alya Lintang Kholilah, dilahirkan di Wonogiri pada 30 Desember 2002. Penulis merupakan putri pertama dari pasangan Bapak Listiono dan Ibu Eni Dwi Asih, serta memiliki dua orang saudara kandung. Pendidikan formal penulis dimulai pada tingkat Taman Kanak-Kanak di TK Darurahman Bekasi pada tahun 2008—2009, kemudian dilanjutkan ke jenjang Sekolah Dasar di SD Negeri Kalibaru 1 pada tahun 2009—2015. Penulis melanjutkan pendidikan ke tingkat Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 25 Bekasi pada tahun 2015—2018, dan melanjutkan ke tingkat Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 12 Bekasi pada tahun 2018—2021. Setelah menyelesaikan pendidikan menengah atas, pada tahun 2021 penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menempuh pendidikan pada Program Studi Biologi, penulis menjalani Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Patologi Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL), Serang pada tanggal 2 Januari—10 Februari 2024 dengan judul “Identifikasi Ektoparasit dan Endoparasit pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang“, dan dilanjutkan kembali dengan program Merdeka Belajar Kampus Merdeka (MBKM) pada semester 6 periode TA 2023—2024.

Penulis juga melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari di Desa Negeri Agung, Kecamatan Gunung Gunung Pelindung, Kabupaten Lampung Timur pada periode Juni—Agustus 2024. Diluar kegiatan akademik, penulis juga aktif sebagai anggota Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) di bidang Komunikasi Informasi dan Hubungan Masyarakat (KOMINHUM) untuk periode 2022, dan dilanjutkan memegang amanah sebagai Kepala Bidang KOMINHUM periode 2023. Dalam kurun waktu Januari—Agustus 2025 penulis merampungkan penyusunan skripsi berjudul “Hubungan Keberadaan Gen Resistansi Antimikroba (*Antimicrobial Resistance Gene, ARG*) Golongan  $\beta$ -laktam dan Fenotipe Resistansinya pada Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*“.

## **MOTTO**

*“Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”*

(QS. Al-Insyirah: 6)

*“Everything you lose is a step you take.”*

*“Long story short, I survived.”*

(Taylor Swift)

*“The flower that blooms in adversity is the most rare and beautiful of all.”*

(Mulan)

## **PERSEMBAHAN**

Dengan segala ketulusan hati dan rasa syukur yang mendalam, karya ini dipersembahkan untuk Ayah dan Ibuku tercinta, yang menjadi alasanku untuk tetap bertahan ketika hari terasa berat. Setiap pengorbanan, setiap perjuangan dan setiap kasih sayang yang diberikan menjadi cahaya yang membimbing proses penyelesaian karya ini.

Teruntuk kedua adikku tersayang, yang kehadirannya menjadi sumber semangat, harapan dan alasan untuk tetap melangkah. Doa-doa yang terucap di hati kalian, perhatian kecil yang mungkin tak pernah kalian sadari, serta keyakinan yang kalian tanamkan menjadi penguat yang tak ternilai.

## SANWACANA

Puji syukur dipanjatkan ke hadirat Allah SWT, Tuhan yang Maha Membolak-balikan hati dan pikiran, dengan cahaya kasih-Nya, memberikan kekuatan untuk menapaki setiap proses dalam penyusunan skripsi yang berjudul **“Hubungan Keberadaan Gen Resistansi Antimikroba (*Antimicrobial Resistance Gene, ARG*) Golongan β-laktam dan Fenotipe Resistansinya pada Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*”**. Karya ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Perjalanan penyusunan skripsi ini bukan sekedar rangkaian tugas akademik, melainkan juga perjalanan batin yang mengajarkan kesabaran, ketekunan dan kerendahan hati. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa tanpa bimbingan, tanpa dukungan yang tulus, dan tanpa doa yang dipanjatkan, naskah ini tidak akan selesai dengan baik.

Dengan segala ketulusan hati dan penghormatan yang mendalam, ucapan terima kasih disampaikan kepada:

1. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
3. Ibu Dr. Kusuma Handayani, M.Si. selaku Ketua Program Studi S1 Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
4. Prof. Dr. Bambang Irawan, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberi arahan dan masukkan.

5. Prof. Dra. Endang Linirin Widiastuti M, Sc., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing I yang telah membimbing dengan sabar, serta senantiasa menguatkan penulis selama proses penyusunan skripsi ini.
6. Bapak Yan Evan S.Pi., M.Si. selaku Pembimbing II atas kesabaran dalam membimbing, serta dukungan dan motivasi selama proses penelitian dan penulisan skripsi ini.
7. Ibu Dr. Eti Ernawati, M.P. selaku Dosen Penguji atas perhatian, evaluasi dan masukan yang sangat berarti dalam penyempurnaan skripsi ini.
8. Ibu Dinarti S.Si. selaku Pembimbing Teknis atas ilmu yang dengan tulus diberikan, kesabaran dalam membimbing serta dukungan dalam setiap tahap di penelitian ini.
9. Kepada Ayah dan Ibuku tercinta, atas doa dan cintanya yang menjadi cahaya paling setia di setiap langkah hidup, keyakinan yang tetap dijaga bahkan saat diri ini meragukan banyak hal. Setiap halaman dalam karya ini berdiri berkat dua hati yang selalu menjadi rumah, menjadi tempat kembali, dan menjadi alasan terkuat untuk terus melangkah.
10. Kedua Adikku terkasih, Zufar Nurul Huda dan Gibran Maulana Yusuf yang kehadirannya menjadi sumber kekuatan yang tidak pernah padam. Penulis berharap hasil kecil dari perjalanan ini dapat menjadi kebanggaan bagi kalian, sebagaimana kalian selalu menjadi kebanggaan bagi penulis.
11. Kepada seluruh keluarga besar yang namanya tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang senantiasa mendoakan, mendukung dan memberikan nasihat kepada penulis.
12. Sahabat-sahabatku tersayang yang hingga kini menjadi bagian paling hangat dalam perjalanan hidup penulis. Biancha, Cantika, Chandrika, Hana, Hanifa, Kartika, Muthia, Nabila, dan Syifa. Diantara hari-hari yang penuh kekhawatiran dan persimpangan, kalian hadir menjadi jeda yang menenangkan, sebuah ruang aman yang menyembuhkan dan tempat penulis kembali menjadi diri sendiri tanpa perlu menjelaskan. Terima kasih untuk kehadiran yang membuat perjalanan ini tidak terasa sendirian. Dalam kebersamaan yang panjang ini, semoga persahabatan kita terus tumbuh menjadi naungan yang saling menguatkan, meskipun waktu dan jarak kelak mungkin memisahkan

langkah. Semoga kita semua selalu menemukan jalan pulang, dan di setiap kepulangan itu, masih ada tawa, cerita dan ketulusan yang sama.

13. Sahabat yang menemani penulis sejak awal perkuliahan, hingga penulis menyelesaikan karya ini. Meilani dan Natasya, terima kasih sudah menjadi titik cahaya yang cukup untuk menerangi seluruh ruang memori perkuliahan penulis.
14. Tim penelitian yang turut hadir dan mewarnai jalannya penelitian ini dari awal hingga akhir, Raffly, Gusafit, dan Cintya. Terima kasih atas segala kontribusi, dedikasi serta kerja keras yang telah diberikan dalam setiap tahapan penelitian ini.
15. Seluruh keluarga besar BPKIL, Serang yang tidak dapat penulis sebutkan namanya satu persatu.
16. Game Roblox, khususnya *Grow a Garden*, *99 Nights in the Forest* dan map gunung yang menemani penulis melepas penat di sela-sela proses penyusunan skripsi ini.
17. Lagu dari *Original Soundtrack* Film *Jumbo*, “Selalu Ada di Nadimu” oleh Prince Poetiray dan Quinn Salman, lagu “You’re On Your Own, Kid”, “The Archer” dan “Nothing New” oleh Taylor Swift, lagu “Semoga Nanti Kamu Tajir” oleh Refo dan Fauna dan lagu “Standing Tall” oleh Adhitia Sofyan, yang menemani penulis melewati berbagai fase dari awal perkuliahan hingga selesai menyusun skripsi.
18. Terima kasih kepada seluruh pihak yang telah memberikan dukungan, bantuan dan doa, baik secara langsung maupun tidak langsung, yang namanya tidak dapat penulis sebutkan namanya satu persatu.

Bandar Lampung, 12 Desember 2025  
Penulis

Alya Lintang Kholilah

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xvii</b>
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Kerangka Pemikiran Penelitian .....	4
1.5 Hipotesis Penelitian.....	7
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>8</b>
2.1 <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	8
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Vibrio parahaemolyticus .....	8
2.1.2 Habitat dan Karakteristik .....	9
2.1.3 Infeksi Vibrio parahaemolyticus .....	9
2.2 Antibiotik .....	11
2.2.1 Mekanisme Kerja Antibiotik.....	12
2.3 Antibiotik Golongan $\beta$ -laktam.....	15
2.3.1 Ampicillin .....	15
2.3.2 Amoxicillin-Clavulanic Acid .....	16
2.3.3 Cefotaxime.....	17
2.3.4 Ceftazidime .....	18
2.3.5 Meropenem .....	18
2.4 Resistansi Antimikroba ( <i>Antimicrobial Resistance</i> , AMR) .....	19
2.5 Vitek 2 Compact.....	20
2.6 Disk Diffusion Method.....	21
2.7 PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) .....	21
<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>23</b>
3.1 Waktu dan Tempat .....	23
3.2 Alat dan Bahan.....	23
3.2.1 Alat .....	23
3.2.2 Bahan .....	23
3.3 Sampel Penelitian.....	24
3.4 Prosedur Kerja.....	24

3.4.1 Preparasi dan Reidentifikasi Sampel Vibrio parahaemolyticus ....	24
3.4.2 Metode Difusi Cakram.....	27
3.4.3 Deteksi Gen Penyandi Resistansi Antibiotik.....	30
3.5 Analisis Data .....	33
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>34</b>
4.1 Hasil Penelitian.....	34
4.1.1 Reidentifikasi Vibrio parahaemolyticus .....	34
4.2 Hasil Uji Difusi Cakram .....	39
4.3 Hasil Uji Deteksi Gen Penyandi Resistansi .....	41
4.4 Pembahasan .....	44
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>53</b>
5.1 Kesimpulan.....	53
5.2 Saran.....	54
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>55</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>63</b>

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Kerangka Pemikiran Penelitian.....	6
2. Karakteristik dan morfologi <i>Vibrio parahaemolyticus</i> . Keterangan: a) Koloni bakteri <i>V. parahaemolyticus</i> pada media TCBS; b) Morfologi bakteri <i>V. parahaemolyticus</i> .....	8
3. pH Optimal Media MHA .....	27
4. Ketebalan Media MHA 4 mm.....	28
5. Hasil Reidentifikasi bakteri <i>V. parahaemolyticus</i> dengan media selektif.....	34
6. Hasil reidentifikasi sampel bakteri <i>V. parahaemolyticus</i> .....	35
7. Hasil elektroforesis reidentifikasi <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	37
8. Hasil uji difusi cakram terhadap antibiotik $\beta$ -laktam.....	40
9. Hasil elektroforesis deteksi gen ampC pada <i>V. parahaemolyticus</i> . .....	42
10. Hasil elektroforesis deteksi gen blaTEM (1073) .....	43
11. Distribusi Tingkat Kepercayaan Identifikasi Isolat dengan Vitek 2 .....	48
12. Distribusi Hasil Difusi Cakram Antibiotik $\beta$ -laktam terhadap <i>V. parahaemolyticus</i> .....	49

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Klasifikasi Antibiotik Golongan $\beta$ -laktam .....	15
2. Standar Interpretasi Diameter Zona Hambat antibiotik $\beta$ - laktam pada <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	29
3. Diameter Zona Hambat QC Bakteri E. coli ATCC 25922.....	30
4. Komposisi Pengenceran Primer .....	31
5. Reaction mix PCR Pengujian Gen Penyandi Resistansi .....	31
6. Target Gen dan Primer Deteksi Gen Penyandi Resistansi Antibiotik .....	32
7. Hasil Reidentifikasi <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dengan Vitek 2 Compact .....	36
8. Hasil Reidentifikasi Isolat <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	38
9. Hasil Interpretasi Difusi Cakram Antibiotik $\beta$ -laktam terhadap <i>V. parahaemolyticus</i> .....	40
10. Hasil Interpretasi Difusi Cakram Antibiotik $\beta$ -laktam terhadap <i>V. parahaemolyticus</i> (Lanjutan) .....	41
11. Hasil PCR Deteksi Gen Penyandi Resistansi ampC dan blaTEM pada <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	43
12. Hasil Interpretasi Uji Difusi Cakram <i>Vibrio parahaemolyticus</i> terhadap antibiotik $\beta$ -laktam .....	64
13. Hasil Interpretasi Uji Difusi Cakram <i>Vibrio parahaemolyticus</i> terhadap antibiotik $\beta$ -laktam .....	64
14. Hasil Interpretasi Uji Difusi Cakram <i>Vibrio parahaemolyticus</i> terhadap antibiotik $\beta$ -laktam (Lanjutan) .....	65

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan yang memiliki luas wilayah perairan mencapai dua pertiga dari keseluruhan wilayah. Luasnya wilayah perairan di Indonesia, menjadikan Indonesia sebagai salah satu negara dengan sumber daya kelautan dan perikanan yang melimpah. Salah satu komoditas unggulan di sektor budi daya adalah udang vannamei yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan menjadi sumber protein hewani yang penting bagi masyarakat Indonesia (Artawidya dan Naniek, 2024).

Komoditas ini tidak hanya berperan dalam ketahanan pangan nasional, namun juga memberikan kontribusi signifikan terhadap devisa negara melalui kegiatan ekspor. Hal tersebut dibuktikan melalui Direktorat Jenderal Perikanan Budi daya (2023) yang mencatat nilai ekspor udang vannamei mencapai 2,16% miliar dollar Amerika atau sekitar 34,57% dari nilai ekspor Perikanan Indonesia pada tahun 2022. Pada tahun yang sama, capaian produksi udang mencapai 1,09 juta ton.

Upaya dalam pengembangan sektor budi daya, serta permintaan pasar yang cukup tinggi terkadang terdapat hambatan, seperti munculnya penyakit pada udang. Amarullah dkk., (2023) menyatakan terdapat berbagai faktor yang menyebabkan penyakit pada udang, seperti kondisi inang yang kurang sehat, kondisi lingkungan, serta adanya patogen seperti virus, jamur, parasit dan bakteri. Salah satu patogen yang kerap ditemukan pada lingkungan budi daya udang adalah bakteri *V. parahaemolyticus*.

*Vibrio parahaemolyticus* merupakan salah satu bakteri halofilik Gram negatif serta termasuk dalam golongan bakteri patogen oportunistik yang umum ditemukan pada lingkungan perairan dan estuari. Pada kondisi lingkungan yang stabil, bakteri mampu berperan sebagai mikroorganisme saprofit, namun ketika terjadi stres lingkungan seperti perubahan suhu, salinitas atau kualitas air, *V. parahaemolyticus* dapat berubah menjadi patogen yang dapat menyebabkan penyakit serius pada organisme akuatik, termasuk udang. Infeksi *V. parahaemolyticus* tidak hanya menyebabkan kematian pada udang. Namun, keberadaannya juga dapat menimbulkan risiko zoonosis terhadap manusia, terutama dalam kondisi pengolahan yang tidak sesuai dengan standar keamanan pangan atau sanitasi. Salah satu penyakit yang diakibatkan oleh ketidaktepatan dalam pengolahan pangan adalah gastroenteritis. Gastroenteritis merupakan suatu kondisi inflamasi pada saluran pencernaan, khususnya lambung dan usus yang pada umumnya ditandai dengan gejala klinis seperti diare, nyeri perut, mual, muntah dan terkadang demam (Jung S, 2018).

Permasalahan yang dihadapi semakin kompleks dengan adanya fenomena resistansi antimikroba, yang merupakan kemampuan mikroorganisme untuk bertahan hidup dan berkembang biak, meskipun terpapar oleh antibiotik yang efektif untuk melawan bakteri target. Hal tersebut dikarenakan bakteri mengalami evolusi genetik, sehingga mampu bertahan terhadap pengaruh agen antimikroba (WHO, 2021). Resistansi ini dapat disebabkan oleh berbagai faktor, termasuk dalam penggunaan antibiotik yang tidak rasional. Pada sektor perikanan, penggunaan antibiotik menjadi pendekatan utama dalam pengendalian penyakit, namun dalam praktik penggunaannya, tidak diikuti dengan pemantauan yang ketat terhadap residu dan dampak jangka panjang. Hal tersebut dapat memicu seleksi alam terhadap bakteri patogen dan meningkatkan prevalensi gen resistansi (*Antimicrobial Resistance Genes*) di lingkungan perairan (Tang dkk., 2023).

Terdapat berbagai jenis antibiotik yang dapat digunakan dalam pengobatan. Salah satu kelompok antibiotik yang sering digunakan dan kini menghadapi

tantangan resistansi adalah kelompok  $\beta$ -laktam. Antibiotik  $\beta$ -laktam merupakan kelompok agen bakterisida yang bekerja dengan menghambat pembentukan dinding sel bakteri yang berperan penting bagi kelangsungan hidup bakteri, terutama selama fase pembelahan. Mekanisme ini dilakukan melalui ikatan kovalen antibiotik terhadap enzim *Penicillin-Binding Proteins* (PBPs) yang berperan dalam tahapan akhir dalam pembentukan dan pengikatan silang (*Cross-linking*) peptidoglikan dalam dinding sel bakteri, baik pada Gram positif maupun Gram negatif (Bush dan Patricia, 2016).

$\beta$ -laktam memiliki efektivitas yang tinggi dalam medis, terutama dalam terapi infeksi bakteri pada manusia, namun penggunaannya dalam sektor perikanan di Indonesia belum direkomendasikan secara resmi. Hal tersebut dibuktikan dalam Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia Nomor 1/PERMEN-KP/2019 tentang klasifikasi obat ikan. Pada keputusan Menteri tersebut, hanya disebutkan beberapa antibiotik yang diperbolehkan dalam proses pembudi dayaan, yaitu golongan *tetracycline* (*chlortetracycline*, *oxytetracycline*, dan *tetracycline*), *macrolide* (*erythromycin*), *fluoroquinolone* (*enrofloxacin*) dan *sulfonamide* (*sulfadiazine*). Meskipun dalam penggunaannya tidak disarankan, namun keberadaan gen resistansi terhadap golongan  $\beta$ -laktam dapat ditemukan di lingkungan perairan, termasuk pada *V. parahaemolyticus*. Hal ini mengindikasikan adanya potensi penyebaran gen resistansi antimikroba dari berbagai sumber, seperti kontaminasi limbah rumah sakit yang mencemari lingkungan budi daya, maupun aktivitas manusia lain yang berdampak langsung pada ekosistem perairan (Hadi dkk., 2018).

Oleh karena itu, penting untuk dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai hubungan antara keberadaan gen resistansi antimikroba, khususnya pada golongan  $\beta$ -laktam, dengan fenotip resistansinya pada *V. parahaemolyticus*. Studi yang dilakukan ini diharapkan dapat memberikan informasi komprehensif mengenai potensi bahaya resistansi antimikroba dalam sistem budi daya di sektor perikanan, terutama udang vannamei, serta menjadi dasar

pengambilan kebijakan yang tepat dalam pengelolaan kesehatan dan keamanan pangan. Dengan demikian, keberlanjutan budi daya dan konsumsi masyarakat dapat terjamin secara simultan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Bagaimana profil fenotip resistansi antibiotik golongan  $\beta$ -laktam pada isolat arsip *Vibrio parahaemolyticus* yang berasal dari udang vannamei dan lingkungan budi daya?
2. Apakah gen resistansi antimikroba *ampC* dan *blaTEM* terdeteksi pada isolat arsip *Vibrio parahaemolyticus* yang berasal dari udang vannamei dan lingkungan budi daya?
3. Bagaimana hubungan antara keberadaan gen resistansi golongan  $\beta$ -laktam dengan pola resistansi fenotipik terhadap antibiotik  $\beta$ -laktam pada isolat arsip *Vibrio parahaemolyticus* yang berasal dari udang vannamei dan lingkungan budi daya?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mendeteksi profil fenotipe resistansi antibiotik  $\beta$ -laktam pada isolat *Vibrio parahaemolyticus* yang berasal dari udang vannamei dan lingkungan budi daya
2. Mengidentifikasi keberadaan gen resistansi antimikroba *ampC* dan *blaTEM* pada isolat *Vibrio parahaemolyticus* yang berasal dari udang vannamei dan lingkungan budi daya
3. Menganalisis hubungan keberadaan gen resistansi  $\beta$ -laktam dengan pola resistansi fenotipik terhadap antibiotik  $\beta$ -laktam pada isolat *Vibrio parahaemolyticus*

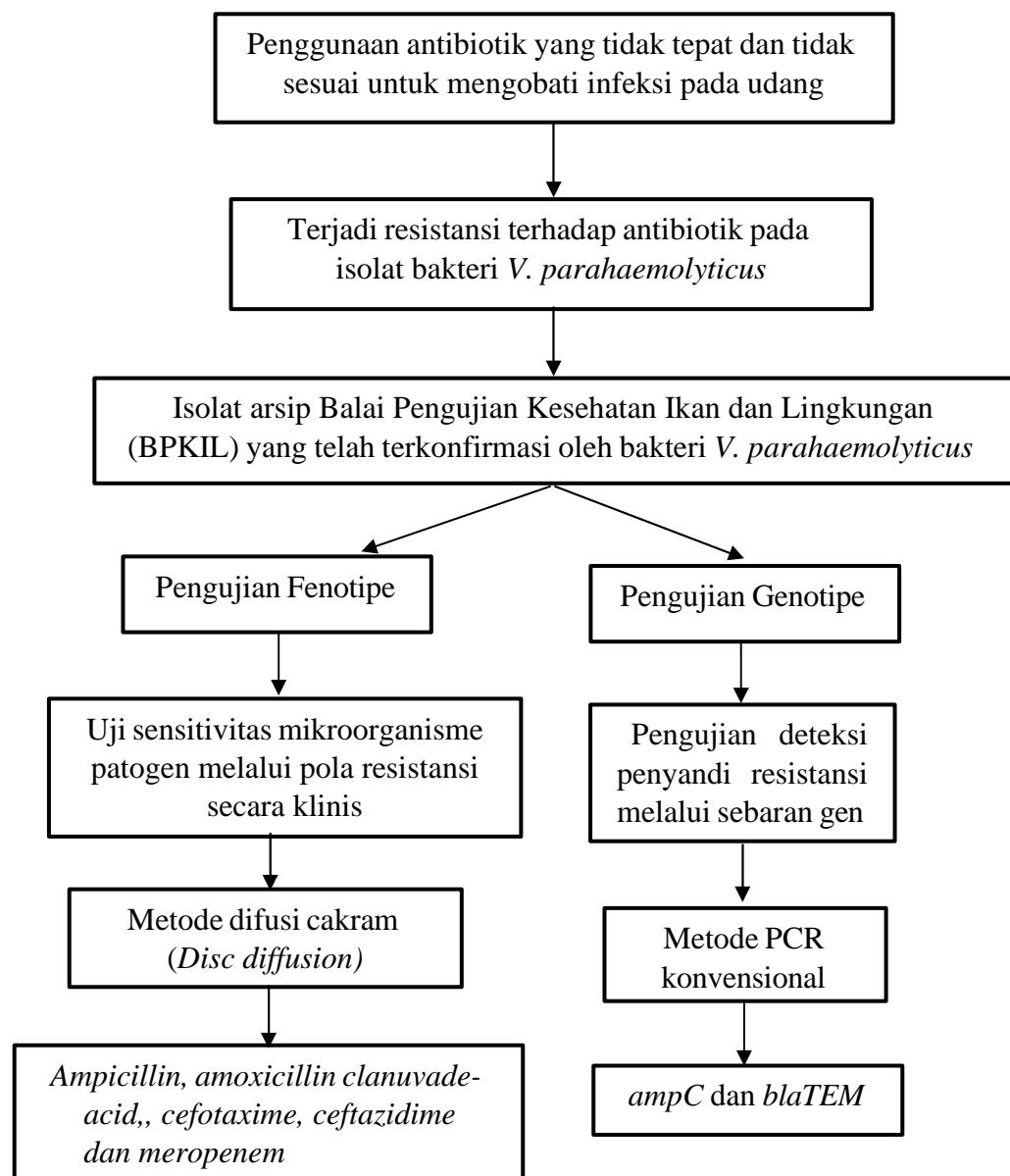
## 1.4 Kerangka Pemikiran Penelitian

*Vibrio parahaemolyticus* merupakan bakteri patogen oportunistik yang

banyak ditemukan di lingkungan perairan, khususnya pada budi daya udang vannamei. Dalam kondisi lingkungan yang tidak stabil, bakteri ini dapat menyebabkan infeksi serius yang berdampak pada produktivitas budi daya. Selain merugikan sektor budi daya, *V. parahaemolyticus* juga bersifat zoonosis melalui konsumsi produk perikanan yang tidak diolah dengan baik. Infeksi *V. parahaemolyticus* pada manusia umumnya menyebabkan gastroenteritis. Penggunaan antibiotik merupakan salah satu metode utama dalam pengendalian infeksi bakteri *V. parahaemolyticus*.

Salah satu contoh antibiotik yang digunakan adalah antibiotik golongan  $\beta$ -laktam yang bekerja dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri, namun efektivitasnya dapat menurun apabila bakteri memiliki gen penyandi enzim  $\beta$ -laktamase seperti *ampC* dan *blaTEM*. Gen resistansi tersebut berperan dalam menetralkan kerja antibiotik melalui inaktivasi cincin  $\beta$ -laktam, sehingga bakteri dapat bertahan hidup meskipun telah terpapar antibiotik. Penyebaran gen resistansi di lingkungan perairan dapat terjadi melalui buangan limbah industri, domestik, dan aktivitas akuakultur yang turut meningkatkan prevalensi bakteri resisten. Hal tersebut mengurangi efektivitas pengobatan dan meningkatkan risiko penularan bakteri resisten ke manusia melalui rantai makanan.

Oleh karena itu, kajian lebih lanjut diperlukan mengenai hubungan antara keberadaan gen resistansi  $\beta$ -laktam dengan pola resistansi fenotipik pada *V. parahaemolyticus*. Penelitian ini dilakukan melalui dua pendekatan, yaitu dengan uji fenotipik dengan metode difusi cakram untuk mengetahui sensitivitas antibiotik, serta uji genotipik untuk mendeteksi keberadaan gen penyandi resistansi *ampC* dan *blaTEM* dengan metode PCR. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat menjadi dasar dalam penggunaan antibiotik yang lebih bijak, serta mencegah penyebaran resistansi antibiotik, baik di lingkungan budi daya maupun dalam konteks kesehatan masyarakat. Berdasarkan uraian di atas, kerangka berpikir penelitian ini disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka Pemikiran Penelitian

## 1.5 Hipotesis Penelitian

Adapun hipotesis pada penelitian ini, diantaranya sebagai berikut.

1. Terdapat isolat *V. parahaemolitycus* dari udang vannamei dan lingkungan budi daya menunjukkan pola resistansi terhadap antibiotik  $\beta$ -laktam.
2. Gen penyandi resistansi  $\beta$ -laktam (*ampC* dan *blaTEM*) terdeteksi pada isolat *V. parahaemolitycus*.
3. Terdapat hubungan antara keberadaan gen resistansi  $\beta$ -laktam dan pola resistansi antibiotik secara fenotipik.

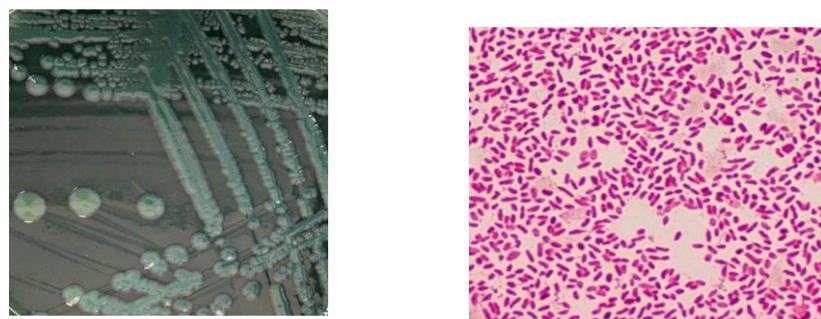
## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Vibrio parahaemolyticus*

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi *Vibrio parahaemolyticus*

*Vibrio parahaemolyticus* merupakan salah satu spesies bakteri dari famili *Vibrionaceae*. Klasifikasi bakteri *V. parahaemolyticus* sebagai berikut (Rozanah, 2016).

Kindom	:	Bacteria
Filum	:	Proteobacteria
Class	:	Gammaproteobacteria
Order	:	Vibrionales
Family	:	<i>Vibrionaceae</i>
Genus	:	<i>Vibrio</i>
Species	:	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>



a)

b)

Gambar 2. Karakteristik dan morfologi *Vibrio parahaemolyticus*. Keterangan: a) Koloni bakteri *V. parahaemolyticus* pada media TCBS; b) Morfologi bakteri *V. parahaemolyticus*

Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* adalah bakteri motil, Gram negatif, halofilik, dengan bentuk bengkok atau koma yang dapat memproduksi energi untuk pertumbuhan melalui proses oksidasi, fakultatif anaerob dan memiliki flagelum kutub tunggal serta tidak dapat membentuk spora. *Vibrio parahaemolyticus* juga bersifat *zoonosis* yang artinya dapat ditularkan dari hewan yang terinfeksi ke manusia atau sebaliknya (Baker dkk., 2010).

### **2.1.2 Habitat dan Karakteristik**

*Vibrio parahaemolyticus* termasuk bakteri halofilik yang artinya dapat tumbuh optimal pada lingkungan berkadar garam 3%, tidak memfermentasikan laktosa, mampu tumbuh pada suhu 37—44°C (tumbuh optimal pada suhu 37°C). Sementara itu, pH optimalnya berkisar 4,8—11. Pada kondisi pertumbuhan yang optimal, waktu generasi bakteri selama fase eksponensial berkisar 9—13 menit (Jay dkk., 2005). Menurut Takwin dkk., (2023), bakteri ini jarang ditemukan pada suhu perairan di bawah 1°C, namun keberadaanya berpotensi meningkat sejalan dengan meningkatnya suhu perairan.

Bakteri ini memiliki beberapa karakter yang membedakannya dengan spesies *Vibrio* lainnya, contohnya *V. parahaemolyticus* tidak melakukan proses fermentasi sukrosa seperti *V. cholerae* dan *V. alginolyticus*. Selain itu, kultur bakteri pada media padat mampu tumbuh menggunakan lateral flagella dan bersifat halofilik dengan rentang garam 0,5—8% (Nitimulyo dkk., 2005).

### **2.1.3 Infeksi *Vibrio parahaemolyticus***

Penyakit udang yang disebabkan oleh bakteri *V. parahaemolyticus* menyerang udang pada fase awal budi daya dengan ciri kerusakan pada hepatopankreas. Udang yang terinfeksi bakteri ini ditandai dengan usus yang kosong karena hilangnya nafsu makan, karapas

melunak, berenang memutar, sekarat dan tenggelam, terjadi kematian mendadak pada udang di fase larva dan post larva dengan tingkat mortalitas yang cukup tinggi dalam waktu yang singkat, adapun pada fase pemberian menyebabkan larva lemah dan kondisi hepatopancreas mengkerut dan berwarna pucat (Bagas dkk., 2023). Eksistensi *V. parahaemolyticus* yang bersifat patogenik pada produk perikanan berpotensi menyebabkan penyakit pada manusia melalui konsumsi pangan (foodborne diseases) yang sebagian besar kasusnya melalui makanan mentah atau tidak dimasak dengan sempurna (Bagus dkk., 2023).

Sebagai salah satu bakteri patogen yang menyerang saluran pencernaan, *V. parahaemolyticus* memiliki sejumlah faktor virulensi yang mendukung kemampuannya dalam menginfeksi inang. Salah satu gen regulator yang berperan penting adalah gen *toxR*, yang pada awalnya ditemukan pada *Vibrio cholerae*, namun juga ditemukan pada *V. parahaemolyticus* serta beberapa spesies *Vibrio* lainnya. Meskipun gen ini ditemukan pada lintas spesies, terdapat perbedaan dalam susunan basa nukleotida dan ukuran fragmennya. Gen *toxR* berperan penting dalam membantu bakteri beradaptasi dalam kondisi usus dengan cara mengatur sistem pertahanan bakteri terhadap garam empedu ketika berada di dalam usus inang. Gen *toxR* juga berfungsi mengatur respon bakteri terhadap respon lingkungan, serta mengaktifkan transkripsi gen virulensi seperti *Thermostable Direct Hemolysin* (TDH), dan *TDH-related Hemolysin* (TRH) (Alawiyyah dkk., 2017).

*Vibrio parahaemolyticus* mampu menghasilkan hemolisin yang bersifat enterotoksin dan dapat merusak sel darah pada organisme yang terinfeksi. Patogen ini memiliki beberapa faktor virulensi utama seperti, adhesin, tdh dan trh, yang berperan dalam proses infeksi. Pada tahap infeksi, adhesin berperan dalam pelekatkan bakteri pada permukaan sel inang, yang kemudian memungkinkan proses sekresi

protein efektor (Hasrimi dkk., 2017). Menurut Jeong dkk., (2020), *Vibrio parahaemolyticus* yang berhasil menempel pada inang dapat mengekspresikan berbagai faktor virulensi, salah satunya adalah hemolisin. Gen *tdh* dan *trh* menyandi protein hemolitik yang berperan dalam merusak sel-sel inang. Gen *tdr* diketahui dapat merusak sel epitel usus melalui mekanisme yang bergantung pada suhu lingkungan. Gen *tdr* yang berikatan dengan membran sel target dapat membentuk pori yang menyebabkan masuknya ion kalsium secara berlebihan. Kondisi tersebut akan memicu terbukanya saluran klorida dan meningkatkan sekresi io klorida dari sel epitel, sehingga menyebabkan diare akut.

## 2.2 Antibiotik

Antibiotik merupakan agen farmakologis yang digunakan untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme. Antibiotik sendiri merupakan senyawa yang dapat dihasilkan secara alami oleh mikroorganisme, seperti fungi, maupun secara sintetik, yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme lain, dengan tingkat toksitas yang relatif rendah terhadap makhluk hidup (Makkasau dkk., 2022). Menurut Fadrian (2023), berdasarkan cara kerja antibiotik terhadap sel bakteri, antibiotik secara umum dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok, yaitu bakteriostatik dan bakterisidal. Antibiotik bakteriostatik bekerja dengan menghambat pertumbuhan dan replikasi bakteri, tanpa langsung membunuh bakteri.

Contoh dari golongan ini antara lain adalah glikosiklin (tigersiklin), tetrasiklin (doksisiklin, minosiklin), linkosamid (clindamisin), makrolid (azitromisin, klaritromisin, eritromisin), oxazolidindion (linezoid), dan sulfonamid (sulfametoxazol), sedangkan antibiotik yang bersifat bakterisidal adalah aminoglikosida (tobramisin, gentamisin, amikasin) betalaktam (amoksisiklin, sefazolin, meropenem), fluoroquinolone (ciprofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin), glikopeptida (vankomisin), lipopeptide siklik (daptomisin),

nitroimidazole (metronidazole).

### 2.2.1 Mekanisme Kerja Antibiotik

Menurut Fadrian (2023), antibiotik bekerja melalui lima mekanisme utama, yaitu:

- a. Menghambat pembentukan dinding sel bakteri.

Dinding sel bakteri adalah struktur yang bersifat makromolekul elastis dan berfungsi penting dalam menjaga bentuk sel serta melindungi bakteri dari pecahnya sel (lisis) akibat tekanan osmotik tinggi dalam sel. Komponen utama dari dinding sel merupakan peptidoglikan, yaitu suatu polimer yang tersusun atas rantai panjang N-acetylglucosamine (GlnNAc) dan N-acetylmuramic acid (MurNAc). Kedua komponen ini saling terhubung melalui ikatan silang dengan peptida pendek yang terdiri dari empat asam amino, dibantu oleh enzim transpeptidase dan karbodioksida yang dikenal sebagai *Penicillin-binding proteins* (PBPs). Struktur dinding sel ini menjadi target utama bagi beberapa jenis antibiotik, khususnya golongan  $\beta$ -laktam (penisilin, sefalosporin, karbapenem dan monobactam) serta golongan glikopeptida (seperti vankomisin dan teikoplanin) yang bekerja dengan cara menghambat proses pembentukan dinding sel, sehingga mengganggu kelangsungan hidup bakteri.

- b. Merusak fungsi membran sel

Sel bakteri diselimuti oleh dua lapisan utama, yaitu membran plasma dan dinding sel. Dinding sel yang tersusun atas peptidoglikan yang terletak di bagian luar membran sitoplasma dan berperan sebagai penghalang permeabilitas terhadap molekul-molekul besar, namun tetap memungkinkan molekul kecil melewatinya. Antibiotik dari golongan polimiksin memiliki muatan positif yang dapat berinteraksi dengan permukaan bakteri yang bermuatan negatif, sebagai akibat dari keberadaan peptidoglikan dan lipopolisakarida (LPS) pada

membran luarnya. Polimiksin akan berikatan langsung dengan membran sel bakteri dan menyebabkan peningkatan permeabilitas membran dan kerusakan pada struktur dinding sel. Kerusakan ini mengganggu keseimbangan osmotik, menyebabkan keluarnya isi sel dan masuknya cairan secara cepat, serta menghambat proses respirasi sel. Akumulasi dari gangguan tersebut pada akhirnya mengakibatkan kematian sel bakteri.

c. Menghambat proses sintesis protein

Sintesis protein merupakan proses biologis penting dan kompleks yang terjadi di dalam sel untuk menghasilkan protein yang dibutuhkan oleh bakteri. Proses ini terdiri dari dua tahapan utama, yaitu transkripsi dan translasi, yang kemudian dibagi menjadi empat langkah: elongasi, terminasi dan daur ulang (recycling). Antibiotik yang bekerja dengan menghambat proses sintesis protein memanfaatkan perbedaan struktur ribosom antara bakteri dan sel eukariotik, sehingga mampu menghambat pertumbuhan sel bakteri secara selektif, khususnya dengan menargetkan subunit ribosom 30S dan 50S pada ribosom bakteri tipe 70S. Antibiotik yang menghambat fungsi subunit 30S meliputi makrolida, aminoglikosida dan tetrasiiklin. Antibiotik ini mengandung gugus karbohidrat bermuatan positif yang memungkinkan sehingga ketika masuk ke dalam sel bakteri akan berikatan dengan membran plasma bakteri yang bermuatan negatif, sehingga dapat berdifusi masuk ke dalam sel. Setelah masuk ke dalam sel bakteri, antibiotik dapat mengganggu proses translasi protein dan dapat menyebabkan kesalahan pembacaan kode genetik (mistranslasi). Sementara itu, antibiotik seperti kloramfenikol bekerja dengan cara menghambat aktivitas subunit 50S, yang juga berperan penting dalam proses translasi protein.

d. Menghambat sintesis asam nukleat

Proses sintesis DNA pada bakteri melibatkan sejumlah enzim

penting yang dikenal sebagai topoisomerase. Enzim ini terbagi ke dalam dua tipe utama: topoisomerase tipe IA (yang mencakup Topo I dan Topo II) dan tipe IIA (yang terdiri dari DNA gyrase dan Topo IV). Enzim-enzim ini berperan dalam pengaturan struktur DNA selama replikasi dan pemisahan kromosom.

Gangguan pada fungsi enzim ini dapat menyebabkan pembentukan DNA yang abnormal.

Floroquinolon merupakan antibiotik spektrum luas yang efektif terhadap berbagai jenis bakteri, termasuk bakteri Gram positif, Gram negatif dan anaerob. Antibiotik ini bekerja dengan cara menghambat enzim DNA gyrase pada bakteri Gram negatif yang berperan dalam memulai replikasi DNA. Selain itu, fluoroquinolon juga dapat menghambat enzim Topo IV pada bakteri Gram positif, yang berperan penting dalam proses pemisahan kromosom selama pembelahan sel.

- e. Menghambat jalur metabolisme atau aktivitas enzim bakteri. Sel eukariotik dapat memperoleh folat melalui mekanisme transpor aktif, sedangkan mikroorganisme perlu melakukan sintesis folat secara mandiri dengan *de novo*. Perbedaan ini menjadikan jalur biosintesis folat sebagai sasaran yang potensial dalam pengembangan antibiotik. Salah satu contoh jenis antibiotik, yaitu sulfonamid yang bekerja dengan cara menghambat kerja *para-aminobenzoic acid* (PABA), senyawa yang berperan penting dalam sintesis folat pada bakteri. Sulfonamid memiliki struktur kimia yang mirip dengan PABA, sehingga mampu bertindak sebagai inhibitor kompetitif. Dengan cara ini, sulfonamid dapat mencegah bakteri memproduksi folat yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidupnya. Selain itu, antibiotik dari golongan diaminopiridin, seperti trimetoprim juga digunakan untuk menghambat enzim dihidrofolat reduktase (DHFR), yaitu enzim dalam tahap akhir sintesis folat. Penghambatan enzim ini

semakin memperkuat efek antimikroba karena bakteri ini tidak mampu menghasilkan folat secara efektif.

### 2.3 Antibiotik Golongan $\beta$ -laktam

Antibiotik merupakan obat yang digunakan untuk mencegah, serta dapat mengobati infeksi bakteri dengan membunuh atau menghambat pertumbuhan suatu bakteri penyebab penyakit. Antibiotik yang digunakan dalam pengobatan terbagi dalam beberapa golongan, diantaranya golongan  $\beta$ -laktam. Antibiotik yang termasuk dalam golongan  $\beta$ -laktam memiliki komponen cincin  $\beta$ -laktam. Antibiotik  $\beta$ -laktam bersifat bakterisidal yang bekerja dengan menghancurkan struktur penting atau mengganggu fungsi vital dalam sel bakteri, dan menyebabkan kematian bakteri. Antibiotik  $\beta$ -laktam bekerja melalui mekanisme sintesis dinding sel dengan mengikat *Penicillin Binding Protein* (PBP) pada bakteri dan mengganggu ikatan silang pada struktur dinding peptidoglikan bakteri sehingga mencegah transpeptidase terminal di dinding sel bakteri Gram negatif dan positif (Bush dan Patricia, 2016).

Tabel 1. Klasifikasi Antibiotik Golongan  $\beta$ -laktam

Kelompok	Antibiotik
Penisilin	Penisilin G, Penisilin V, Amoksisilin, Ampisilin, Oksasilin, Nafsilin, Dikloksasilin, Piperasilin, Tikarsilin
Sefalosporin	- Generasi I: Sefaleksin, Sefazolin - Generasi II: Sefuroksim, Sefaklor - Generasi III: Seftriakson, Sefotaksim, Seftazidim - Generasi IV: Sefepim - Generasi V: Ceftarolin
Karbapenem	Imipenem, Meropenem, Ertapenem
Monobaktam	Aztreonam

#### 2.3.1 *Ampicillin*

Ampisilin merupakan antibiotik golongan  $\beta$ -laktam, yang termasuk dalam kelompok penisilin serta diklasifikasikan sebagai aminopenisilin (*Broad spectrum penicillin*). Ampisilin ini merupakan

turunan semi sintetik dari penisilin yang berperan sebagai antibiotik dengan spektrum luas yang dapat dikonsumsi secara oral. Ampisilin dapat bekerja dengan mencegah tahap akhir transpeptidase dalam sintesis peptidoglikan pada dinding sel bakteri. Mekanisme tersebut dilakukan dengan mengikat protein pengikat penisilin (*Penicillin Binding Protein*) yang merupakan suatu enzim dengan tanggung jawab dalam pembentukan struktur dinding sel, sehingga berakibat dalam terhentinya biosintesis dinding sel dan menyebabkan lisis sel (Bereda, 2022).

Penggunaan ampisilin secara luas dalam pengobatan infeksi bakteri telah menyebabkan munculnya resistansi, terutama akibat produksi enzim  $\beta$ -laktamase yang mampu menginaktivasi struktur cincin  $\beta$ -laktam pada molekul antibiotik (Tenover, 2006). Dalam konteks penelitian resistansi antimikroba, ampisilin sering digunakan sebagai antibiotik uji untuk mengamati pola resistansi bakteri patogen, terutama dari spesies Enterobacteriaceae. Informasi mengenai tingkat resistansi terhadap ampisilin sangat penting sebagai dasar dalam menentukan strategi terapi empiris dan pengendalian infeksi di lingkungan klinis maupun komunitas (Leekha dkk., 2011).

### 2.3.2 *Amoxicillin-Clavulanic Acid*

Amoksisilin-klavulanat (*amoxicillin-clavulanic acid*) merupakan kombinasi antibiotik  $\beta$ -laktam yang terdiri dari amoksisilin, antibiotik golongan penisilin semi-sintetik, asam klavulanat dan suatu senyawa  $\beta$ -laktamase inhibitor. Kombinasi ini dikembangkan untuk mengatasi resistansi bakteri akibat produksi enzim  $\beta$ -laktamase yang dapat menginaktivasi antibiotik  $\beta$ -laktam (Katzung dkk., 2018). Amoksisilin bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri melalui pengikatan pada *penicillin-binding proteins* (PBPs). Namun, banyak bakteri patogen, terutama dari famili *Enterobacteriaceae*, menghasilkan enzim  $\beta$ -laktamase yang dapat merusak struktur cincin

$\beta$ -laktam amoksisilin, dan menjadikannya tidak efektif. Oleh karena itu, asam klavulanat ditambahkan sebagai inhibitor yang secara *irreversible* mengikat enzim  $\beta$ -laktamase, sehingga mencegah degradasi amoksisilin dan memperluas spektrum antibakteri (Drawz dan Bonomo, 2010).

### 2.3.3 *Cefotaxime*

*Cefotaxime* adalah antibiotik  $\beta$ -laktam yang termasuk dalam kelompok sefalosporin generasi ketiga. Senyawa ini dikembangkan untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif, terutama yang telah menunjukkan resistansi terhadap antibiotik generasi sebelumnya. *Cefotaxime* memiliki spektrum aktivitas luas dan digunakan secara luas dalam praktik klinik untuk menangani infeksi saluran pernapasan, infeksi saluran kemih, infeksi intra-abdomen, sepsis, meningitis, infeksi tulang dan sendi (Bruton dkk., 2017).

Mekanisme kerja utama cefotaxime adalah dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri. Antibiotik ini berikatan dengan enzim *Penicillin-Binding Proteins* (PBPs) yang berperan penting dalam tahap akhir pembentukan dinding sel bakteri, yaitu sintesis dan retikulasi peptidoglikan. Ikatan cefotaxime dengan PBP dapat menyebabkan terhentinya sintesis peptidoglikan, yang berujung pada melemahnya struktur dinding sel, lisis osmotik dan akhirnya kematian sel bakteri. Aktivitas bakterisidal tersebut bersifat *time dependent*, yaitu efektivitasnya bergantung pada lamanya waktu konsentrasi antibiotik berada di atas konsentrasi hambat minimal (*Minimum Inhibitory Concentration/ MIC*) (Katzung dkk., 2018; Brunton dkk., 2017; CLSI, 2021). Cefotaxime relatif stabil terhadap sebagian besar  $\beta$ -laktamase, namun telah dilaporkan adanya resistansi akibat produksi enzim *Extended Spectrum Beta-Lactamases* (ESBLs) yang mampu menginaktivasi antibiotik  $\beta$ -laktam generasi ketiga (WHO, 2023).

#### 2.3.4 *Ceftazidime*

Ceftazidime adalah antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga yang termasuk dalam kelompok  $\beta$ -laktam. Antibiotik ini diketahui memiliki spektrum kerja yang luas, terutama terhadap bakteri Gram negatif, termasuk *Pseudomonas aeruginosa* (Davies dkk, 1983).

Menurut Drawz dan Bonomo (2010), ceftazidime bekerja dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri melalui ikatan dengan protein pengikat penisilin yang berperan penting dalam pembentukan dan berbaikan dinding sel, proses ini dapat menyebabkan dinding sel menjadi lemah dan akhirnya sel bakteri mengalami lisis. Keunggulan ceftazidime dibandingkan beberapa golongan sefalosporin lain adalah efektivitasnya dalam mengatasi infeksi yang disebabkan oleh *P. aeruginosa*, bakteri patogen yang sering ditemukan dan cenderung sulit diobati. Namun, penggunaan ceftazidime juga menghadapi tantangan resistansi, terutama dari bakteri yang menghasilkan enzim  $\beta$ -laktamase spektrum luas (*Extended-Spectrum  $\beta$ -lactamases/ESBLs*) dan metalo  $\beta$ -laktamase (MBLs) (Abushaheen dkk., 2020).

#### 2.3.5 *Meropenem*

Menurut Baldwin dkk., (2008), meropenem merupakan antibiotik dengan spektrum luas yang termasuk dalam golongan karbapenem, yaitu subkelas  $\beta$ -laktam. Antibiotik jenis ini memiliki aktivitas bakteriasidal yang sangat baik terhadap berbagai bakteri Gram negatif, Gram positif dan anaerob. Dengan karakteristik tersebut, meropenem sering digunakan untuk menangani infeksi berat, khususnya infeksi yang disebabkan oleh bakteri multiresisten. Meropenem bekerja dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri melalui ikatan terhadap *penicillin binding proteins* (PBPs), yaitu enzim yang berperan penting dalam proses pembentukan peptidoglikan. Aktivitas tersebut, dapat menyebabkan terganggunya struktur dinding sel, sehingga dinding sel bakteri mengalami lisis dan bakteri mati (Hurst dan Lamb, 2000).

## 2.4 Resistansi Antimikroba (*Antimicrobial Resistance, AMR*)

Resistansi antimikroba merupakan suatu kemampuan mikroorganisme untuk menghambat kemampuan agen antimikroba. Fenomena tersebut dapat terjadi ketika antimikroba kehilangan efisiensinya dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hal tersebut sejalan dengan kondisi mikroorganisme yang mengalami resistansi yang akan beradaptasi secara genetik untuk mengembangkan kemampuan dalam bertahan hidup (Putri dkk., 2023). Menurut Kurnianto dan Syahbanu (2023), terdapat tiga jenis resistansi antimikroba antara lain resistansi mikrobiologis (*in vitro*) yang merupakan penurunan sensitivitas mikroba terhadap antibiotik di bawah batas sensitivitas normal. Resistansi farmakologis yang umumnya didasarkan pada farmakokinetik dan sensitivitas normal mikroorganisme berdasarkan konsentrasi hambat minimum antibiotik. Selain itu, Adapun resistansi klinis (*in vivo*) yang merupakan resistansi pada bakteri penyebab infeksi yang tidak dapat diobati dengan tepat, atau telah terjadi kegagalan dalam pengobatan (Verraes dkk., 2013).

Secara umum, sifat resistansi antimikroba dapat terbentuk dan berkembang melalui beberapa jalur evolusi biologis utama, diantaranya: 1) resistansi intristik (*innate resistance*), merupakan karakteristik resistansi alami yang melekat terhadap spesies atau genus suatu mikroba. Pada proses pembentukannya, sel bakteri akan mengakumulasi kelainan genetik pada gen yang ada dan melakukan transfer gen resisten ke sel progeni melalui transfer gen vertikal, sehingga jenis resistansi ini dapat menyebabkan bakteri secara alami resisten terhadap suatu antibiotik tertentu; 2) Resistansi yang timbul akibat proses pengolahan (*apparent resistance*), menunjukan bahwa kondisi pH rendah atau tinggi pada pengolahan pangan juga dapat menimbulkan resistansi; 3) Resistansi yang diperoleh dari bakteri lain (*acquired resistance*), resistansi ini melibatkan pertukaran genetik seperti simulasi gen target antibiotik dan penambahan elemen ekstra kromosom seperti transfer gen horizontal dan akuisisi gen resistansi yang disimpan dalam elemen genetik bergerak (Holmes dkk., 2016).

Pembentukan resistansi mikroorganisme umumnya dikaitkan dengan perolehan ekstra-kromosom yang membawa gen penentu resistansi. Elemen ini dapat diperoleh melalui mekanisme transformasi, transduksi dan konjugasi. Transformasi melibatkan integrasi DNA bebas ke dalam kromosom bakteri, sedangkan transduksi dapat terjadi melalui transfer gen bakteriofage, serta konjugasi atau transfer gen horizontal merupakan mekanisme paling efisien dan berkontribusi signifikan terhadap penyebaran resistansi antibiotik (Ventola, 2015). Resistansi yang telah terbentuk, menjalankan mekanisme pertahanan bakteri yang meliputi: 1) mutasi pada target antibiotik; 2) modifikasi enzimatik yang mengaktivasi antibiotik; 3) pengurangan konsentrasi antibiotik intraseluler melalui *efflux pump*; 4) penurunan permeabilitas membran terhadap antibiotik, dan 5) adaptasi jalur metabolisme alternatif (Verraes dkk., 2013; Vranakis dkk., 2014).

## 2.5 *Vitek 2 Compact*

*Vitek 2 Compact* merupakan suatu alat identifikasi otomatis berbasis penggunaan teknologi canggih yang dirancang untuk mengidentifikasi suatu mikroorganisme, dan menguji kepekaan antibiotik. Sistem yang dirancang ini, pada awalnya dikenal sebagai *AutoMicrobic System* (AMS). *Vitek 2 Compact* bekerja dengan menggunakan teknologi berbasis pertumbuhan serta menggunakan prinsip *Advanced Colorimetry*, sehingga alat ini mampu untuk mengidentifikasi lebih dari 300 spesies bakteri serta mendeteksi resistansi antibiotik (Kumar dan Kumar, 2024).

*Vitek 2 Compact* bekerja atas prinsip yang melibatkan kombinasi kolorimetri dan turbidimetri, yang menganalisis reaksi biokimia dan aktivitas enzim. Sistem yang bekerja pada *Vitek 2 Compact* ini dengan membaca *card vitek* (suatu kartu yang berisikan reagen dan media bakteri) yang terdiri atas 64 sumuran dengan substrat reaksi yang dapat mendeteksi aktivitas metabolic organisme seperti asidifikasi, alkalinas, dan pertumbuhan inhibitor. Data dikumpulkan melalui pembacaan turbidimetri

dan kolorimetri menggunakan *photometer* yang menghasilkan keakuratan identifikasi dengan lama waktu kurang dari 24 jam. Analisis *Vitek 2 Compact* dilakukan pada suhu 35,5°C dengan pembacaan setiap 15 menit untuk memantau perubahan warna sebagai indikasi reaksi biokimia. Hasil akhir dibandingkan dengan *database* komprehensif dalam sistem untuk memastikan akurasi dan kesesuaian (Kumar dan Kumar, 2024).

## 2.6 *Disk Diffusion Method*

Metode disk difusi merupakan teknik kualitatif yang memanfaatkan prinsip difusi agen antimikroba dalam medium agar. Prinsip dasar dari metode ini adalah difusi senyawa antimikroba dari cakram kertas yang telah diresapi dengan konsentrasi antibiotik tertentu ke dalam medium agar. Aktivitas antimikroba ditentukan dengan terbentuknya zona hambat di sekitar cakram, yang menunjukkan area pertumbuhan dapat dihambat oleh senyawa tersebut. Efektivitas antimikroba diukur berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk, serta merepresentasikan kemampuan bahan uji dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada pengujian tersebut, agen antimikroba yang memiliki aktivitas efektif akan menghasilkan zona hambat yang terbentuk di sekitar area difusi, yang menandakan area tersebut bebas adanya koloniasi bakteri. Pengukuran diameter zona hambat digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antimikroba suatu senyawa. Metode tersebut dinilai sederhana, memiliki tingkat reproduktifitas dan keandalan yang baik (Liu dkk., 2023).

## 2.7 *PCR (Polymerase Chain Reaction)*

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan teknik dalam biologi molekuler yang digunakan untuk memperbanyak segmen DNA tertentu melalui reaksi termal berulang menggunakan dua primer oligodeoksinukleotida dan enzim polimerase. Teknik PCR didasarkan terhadap hubungan kuantitatif antara jumlah sekuen target awal dan produk

PCR yang diperbanyak dalam setiap siklus yang terjadi, sehingga menghasilkan peningkatan produk yang eksponensial. Proses PCR dapat menargetkan molekul DNA spesifik untuk digandakan melalui sintesis molekul DNA baru yang komplementer terhadap untai DNA target. Enzim polimerase dalam PCR berperan untuk mengintergrasikan nukleotida dalam urutan DNA baru dengan bantuan primer pendek dan molekul template DNA yang lebih panjang (Putra dkk., 2020).

Proses PCR yang berlangsung, terdapat beberapa tahapan utama, yaitu: 1) denaturasi yang merupakan siklus reguler pertama dan terdiri dari pemanasan reaksi dengan kisaran suhu 94—98°C selama 20—30 detik. Pada tahapan denaturasi ini dapat menyebabkan pemutusan ikatan hidrogen antar basa komplementer untuk menghasilkan untai tunggal DNA; 2) Annealing, pada tahapan ini terjadi penurunan suhu menjadi 50—65°C selama 20—30 detik yang memungkinkan untuk terjadinya penempelan primer pada untai tunggal DNA; 3) Ekstensi, pada tahapan ini, DNA polimerasi akan mensintesis untai DNA baru yang komplementer dengan untai cetakan DNA serta menambahkan dNTP yang komplementer sesuai dengan untai template, sehingga pada tahapan ini akan menggandakan DNA target pada setiap siklus; 4) Elongasi akhir yang dilakukan dengan suhu 70—74°C selama 5—15 menit setelah siklus berakhir yang bertujuan untuk memastikan keseluruhan DNA tunggal diperpanjang keseluruhannya, serta 5) Final hold yang merupakan tahapan akhir dari proses PCR yang berlangsung pada suhu 4—15 °C, serta berguna untuk penyimpanan jangka pendek (Joy dkk., 2015)

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat**

Penelitian “Hubungan Keberadaan Gen Resistansi Antimikroba (*Antimicrobial Resistance Gene*, ARG) Golongan  $\beta$ -laktam dan Fenotipe Resistansnya pada *Vibrio parahaemolyticus*” akan dilakukan pada bulan Juli—Agustus 2025 di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL), Serang.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, kawat ose, inkubator, *Bacti-cinerator Loop Sterilizer*, cawan petri steril, tabung reaksi steril, *refrigerator*, pinset steril, *vortex mixer*, *waterbath*, imikropipet berbagai ukuran, *sprayer bottle*, *Autoclave*, *biosafety cabinet*, timbangan analitik, densitometer, inkubator, penangas air, *Multiskan SkyHigh Microplate Spectrophotometer*, PCR thermalycer, mesin elektroforesis, *gel scanner system*.

##### **3.2.2 Bahan**

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, isolat bakteri *Vibrio parahaemolyticus*, isolat bakteri kontrol *E. coli* ATCC 25922, *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Tryptic Soya Agar* (TSA), *Tryptic Soya Broth* (TSB), *HiChrome Vibrio Agar* (HVA), larutan standar turbiditas 0,5 McFarland, kit pewarna

Gram, Vitek 2 GN- Card, Agarose, Go-taq Green PCR Master mix 2x, PCR Primer (*ampC* dan *blaTEM*), cakram standar antibiotik, *nuclease free water* (NFW), tabung mikro berbagai ukuran, *microtip* berbagai ukuran, *swab cotton stick*, kaca *preparate*, *set PCR primer*, akuades, dan *alcohol 70%*.

### **3.3 Sampel Penelitian**

Sebanyak 42 sampel *Vibrio parahaemolyticus* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari isolat arsip Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL), Serang. Sampel tersebut diisolasi dari hepatopankreas udang vanname, air budi daya dan sedimen tambak yang berasal dari wilayah Banten, Jawa Tengah, Jawa Barat, Lampung Timur, dan Lampung Selatan.

### **3.4 Prosedur Kerja**

#### **3.4.1 Preparasi dan Reidentifikasi Sampel *Vibrio parahaemolyticus***

Isolat arsip yang dipreservasi pada suhu -80°C dikultur ke media *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose* (TCBS) dengan metode *streak* empat kuadran, lalu diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 35°C selama 18—24 jam. Koloni presuntif positif *V. parahaemolyticus* pada media TCBS digores ke media *HiChrome Vibrio Agar* (HVA). Selanjutnya, bakteri diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 35°C selama 18—24 jam. Koloni presuntif yang tumbuh di media HVA dikultur ke media *Tryptic Soy Agar* (TSA) yang ditambahkan NaCl 2%, lalu diinkubasi pada suhu 35°C selama 18—24 jam.

##### **3.4.1.1 Reidentifikasi dengan Pewarnaan Gram**

Koloni bakteri murni pada media TSA dengan penambahan 2% NaCl diambil satu ose, kemudian diratakan di atas *object glass* yang telah ditetesi akuades steril. *Object glass* difiksasi menggunakan *hot plate* dengan pemanasan ringan hingga kadar air menghilang. Larutan *crystal violet* diteteskan pada *preparate*

selama 1 menit, kemudian dibilas dengan air mengalir dan difiksasi kembali. Larutan iodine diteteskan ke atas object glass selama 1 menit, lalu dibilas dan difiksasi kembali. Selanjutnya, larutan Gram *decolorizer* (alkohol aseton) diteteskan selama 30 detik dan dibilas menggunakan air mengalir, kemudian difiksasi. Pewarna safranin diaplikasikan selama 45 detik yang kemudian dibilas dengan air dan difiksasi. Pengamatan morfologi koloni *V. parahaemolyticus* dilakukan di bawah mikroskop yang ditandai dengan bentuk sel batang dan merupakan jenis bakteri Gram negatif.

#### 3.4.1.2 Reidentifikasi dengan Vitek 2 Compact

Isolat bakteri yang diduga sebagai *V. parahaemolyticus* yang sebelumnya diseleksi menggunakan TCBS dan HVA diidentifikasi lebih lanjut melalui uji biokimia menggunakan *Vitek 2 Compact*. Proses identifikasi diawali dengan pembuatan suspensi bakteri yang diperoleh dari koloni murni yang ditumbuhkan pada media TSA dengan penambahan NaCl 2% untuk menyesuaikan kebutuhan pertumbuhan bakteri halofilik. Suspensi bakteri disiapkan dengan menambahkan 3 ml larutan saline fisiologis 0,45% ke dalam tabung reaksi, selanjutnya koloni bakteri diambil dan disuspensikan hingga homogen. Kepadatan suspensi disesuaikan hingga mencapai 0,5 hingga 0,63 McFarland yang dikonfirmasi menggunakan alat densicheck. Setelah suspensi sesuai dengan standar identifikasi untuk bakteri Gram negatif, kartu identifikasi *Vitek 2 Compact* khusus Gram negatif yang telah dikoneksikan dengan pipa transfer dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi suspensi. Proses registrasi sampel kemudian dilakukan melalui perangkat lunak *Vitek 2 Compact*, yang mencakup pengisian informasi seperti nomor rak kaset, jenis kartu yang digunakan, nomor seri pada kartu, serta *accession ID* sebagai

penanda identitas sampel. Sampel yang telah teregistrasi dimasukkan ke dalam *chamber* pertama untuk proses pengisian otomatis (automated filling), dimana sistem akan menyerap suspensi bakteri dalam waktu 3—5 menit. Setelah itu, rak kaset dipindahkan ke chamber kedua untuk menjalani proses identifikasi biokimia.

#### 3.4.1.3 Uji Konfirmasi dengan PCR

Hasil uji positif *V. parahaemolyticus* pada *Vitek 2 Compact* selanjutnya dikonfirmasi dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan primer *forward* Vp.flaE-79F dengan urutan 5'- GCA GCT GAT CAA AAC GTT GAG-3' dengan primer *reverse* Vp.flaE-934R dengan urutan 5'-ATT ATC GAT CGT GCC ACT CAC-3' (Beshiru dkk., 2020).

Tahapan amplifikasi dengan metode PCR menggunakan 2X *Gotaq® Green Master Mix* (Promega, USA) dengan komposisi yang digunakan adalah *Gotaq Green* 12,5  $\mu$ L, primer F sebanyak 1,25  $\mu$ L, primer R sebanyak 1,25  $\mu$ L, *Nuclease Free Water* (NFW) sebanyak 8  $\mu$ L, dan *template* DNA sebanyak 2  $\mu$ L, dengan total volume *PCR mixture* yang digunakan adalah 25  $\mu$ L. Proses amplifikasi DNA diawali dengan tahapan predenaturasi pada suhu 95°C selama 25 menit, dilanjutkan dengan 35 siklus yang terdiri dari denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik., dilanjutkan dengan proses *annealing* pada suhu 57°C selama 1 menit, lalu ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit., lalu proses akhir ekstensi pada 72°C selama 5 menit. Kemudian, produk PCR di elektroforesis menggunakan *gel agarose* 2% yang diwarnai dengan 4 $\mu$ L *florosafe DNA stain* (Axill Scientific, Singapore), dalam proses elektroforesis digunakan marker 100 bp (Promega, USA). Panjang pita DNA target yang terbentuk adalah sebesar

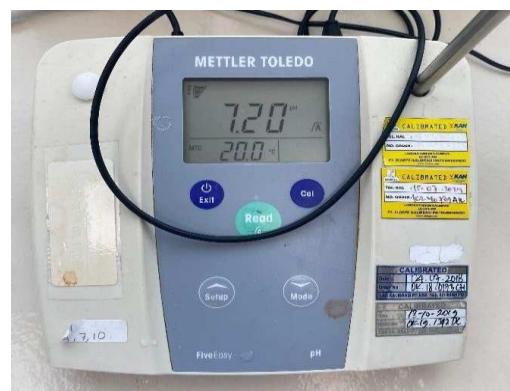
897 bp (Beshiru dkk., 2020).

### 3.4.2 Metode Difusi Cakram

Uji sensitivitas antibiotik menggunakan metode difusi cakram (*disk diffusion*) dengan acuan dan kriteria interpretasi yang direkomendasikan dalam CLSI VET03 (2015).

#### 3.4.2.1 Pembuatan Media Mueller-Hinton Agar (MHA)

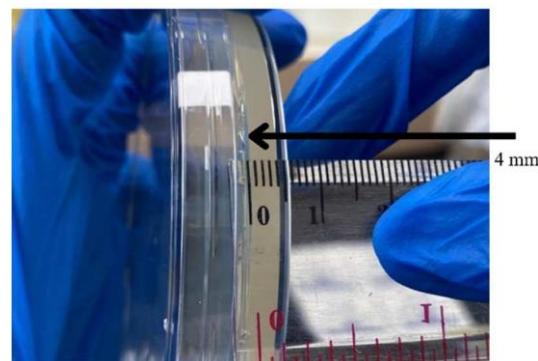
Media MHA (OXOID, UK), dibuat berdasarkan rekomendasi pabrik dengan melarutkan 38 gram media ke dalam 1 liter aquades. Kemudian, media disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah steril dimasukkan ke dalam *waterbath* agar suhunya turun hingga 45°C. Selanjutnya, dilakukan pengukuran pH pada media sesuai dengan standar CLSI VET03 (2015). Nilai pH media MHA yang optimal memiliki rentang berkisar 7,2—7,4. Penyesuaian pH yang melebihi 7,4 dilakukan dengan menambahkan HCl 0,1 M. Sedangkan untuk pH media dibawah 7,2 dilakukan dengan menambahkan NaOH 0,1 M hingga mencapai rentang nilai yang sesuai dengan standar.



Gambar 3. pH Optimal Media MHA

Apabila nilai pH media MHA telah berada pada rentang nilai yang disyaratkan, media dapat dituang ke cawan petri dengan

ketebalan media sebesar 4 mm dan didiamkan dalam *laminar air flow* hingga media memadat. Setelah media memadat, media dapat disimpan dalam oven pada suhu 35°C selama 24 jam untuk pengecekan terhadap kemungkinan adanya kontaminasi pada media sebelum digunakan.



Gambar 4. Ketebalan Media MHA 4 mm

#### 3.4.2.2 Pengujian Difusi Cakram

Sebanyak 6 jenis antibiotik dari golongan  $\beta$ -laktam yaitu *ampicillin* (10  $\mu$ g), *amoxicillin-clavulanate acid* (20  $\mu$ g), *cefotaxime* (30  $\mu$ g), *ceftazidime* (30  $\mu$ g), *meropenem* (10  $\mu$ g) digunakan untuk menganalisa profil resistansi bakteri *V. parahaemolyticus* terhadap antibiotik golongan  $\beta$ -laktam. Biakan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* berumur 18—24 jam yang dikultur dalam media TSA dengan penambahan NaCl 2% diambil sebanyak 3—5 koloni. Koloni disuspensikan ke dalam 5 mL larutan fisiologis dan diukur kekeruhannya hingga 0,5 McFarland (setara dengan  $1 \times 10^8$  CFU/mL) dengan densitometer. Suspensi diinokulasikan pada media MHA dengan metode *streak* secara merata menggunakan *swab cotton stick* steril. Setelah diinokulasi dilakukan, cawan dibiarkan dengan posisi tidak terbalik selama 3—5 menit. Cakram antibiotik diletakkan di atas permukaan media MHA yang telah diinokulasikan bakteri menggunakan pinset steril

dengan jarak yang sedemikian rupa untuk menghindari *overlapping* antar zona hambat. Setelah meletakkan cakram antibiotik, cawan petri dibiarkan dengan posisi tidak terbalik selama 15 menit untuk memaksimalkan perekatan cakram antibiotik. Cakram yang telah berisi antibiotik dan didiamkan selama 15 menit dan diinkubasi dalam inkubator selama 16—18 jam dengan suhu 35°C dengan posisi cawan petri terbalik. Pengujian dilakukan secara duplo untuk setiap isolat. Diameter zona hambat yang didapatkan diukur dan diinterpretasikan sesuai dengan standar acuan CLSI (2015).

Tabel 2. Standar Interpretasi Diameter Zona Hambat antibiotik  $\beta$ - laktam pada *Vibrio parahaemolyticus*

Agen Antimikroba	Disc Content	Diameter Zona Hambat (mm) Kriteria Interpretatif		
		S	I	R
<i>Ampicillin</i>	10 $\mu$ g	$\geq 17$	14—16	$\leq 13$
<i>Amoxicillin</i>		$\geq 18$	14—17	$\leq 13$
<i>clavunade-</i> <i>acid</i>	20/10 $\mu$ g			
<i>Cefotaxime</i>	30 $\mu$ g	$\geq 26$	23—25	$\leq 22$
<i>Ceftazidime</i>	30 $\mu$ g	$\geq 21$	18—20	$\leq 17$
<i>Meropenem</i>	10 $\mu$ g	$\geq 21$	18—20	$\leq 17$

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

Sebagai bagian dari pengujian mutu pada uji kepekaan antibiotik, setiap pengujian sampel disertai dengan penggunaan bakteri *E. coli* ATCC 25922 sebagai kontrol kualitas. Penggunaan kontrol bertujuan untuk memastikan bahwa metode uji yang digunakan telah berjalan sesuai prosedur standar dan menghasilkan data yang valid serta dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah. Standar rentang diameter zona hambat yang digunakan sebagai acuan untuk kontrol bakteri *E. coli* ATCC 25922 merujuk pada standar yang ditetapkan oleh CLSI M45 (2015), yang disajikan pada Tabel 3 di bawah ini:

Tabel 3. Diameter Zona Hambat QC Bakteri E. coli ATCC 25922

Agen Antimikroba	Disc Content	Rentang QC Difusi Cakram (mm)
<i>Ampicillin</i>	10 $\mu$ g	16—22
<i>Amoxicillin</i>	20/10 $\mu$ g	18—24
<i>clavunade-acid</i>		
<i>Cefotaxime</i>	30 $\mu$ g	29—35
<i>Ceftazidime</i>	30 $\mu$ g	25—32
<i>Meropenem</i>	10 $\mu$ g	28--34

### 3.4.3 Deteksi Gen Penyandi Resistansi Antibiotik

#### 3.4.3.1 Ekstraksi DNA Bakteri

Mengacu pada Mulya dkk., (2022), ekstraksi DNA dari bakteri *V. parahaemolyticus* dilakukan dengan metode pemanasan/*boiling* dengan modifikasi. Koloni murni *V. parahaemolyticus* yang di kultur di media TSA-L berumur 24 jam dipanen menggunakan *ose*, kemudian disuspensikan ke dalam *nuclease free water* sebanyak 50  $\mu$ l. Suspensi bakteri dipanaskan dengan *dry block thermostat* pada suhu 100 °C dan dihomogenkan setiap 3 menit menggunakan *vortex*, setelah selesai dilanjutkan dengan sentrifugasi 13.000 rpm selama 5 menit. Supernatant diambil dan dipindahkan ke tabung mikro baru. Kemurnian DNA selanjutnya diukur menggunakan nanodrop “*Multiskan SkyHigh Microplate Spectrophotometer*”.

#### 3.4.3.2 Pengukuran Kualitas DNA

Template DNA yang diperoleh dari hasil ekstraksi dianalisis kualitasnya menggunakan *Microplate Spectrophotometer* dengan mengacu pada rasio absorbansi pada panjang gelombang 260/280 nm. Nilai rasio kemurnian DNA yang baik berada pada kisaran 1,8 hingga 2,0 (Sophian dan Yustina, 2022). Sebanyak 2  $\mu$ l template DNA hasil ekstraksi diteteskan ke dalam sumuran pada *microdrop plate*. Larutan NFW

digunakan sebagai blanko, selanjutnya *plate* dimasukkan ke dalam perangkat *microplate spectrophotometer* untuk dilakukan pengukuran kualitas DNA.

#### 3.4.3.3 Deteksi Gen Penyandi Resistensi

Deteksi gen penyandi *ampC* dan *blaTEM* dilakukan menggunakan metode PCR. Primer yang digunakan untuk mendeteksi kedua gen tersebut dipilih berdasarkan studi Yuenleni (2019), (Tabel 4).

Tabel 4. Komposisi Pengenceran Primer

Konsentrasi Primer (µM)	Stok Primer (µM)	Volume Primer (µM)	Volume NFW (µM)
10	100	10	90

Tabel 5. Reaction mix PCR Pengujian Gen Penyandi Resistansi

Bahan	Volume (µL)	Volume total (µL)
<i>GoTaq Green MasterMix</i>	12,5 µL	525 µL
Primer <i>forward</i>	1,25 µL	52,5 µL
Primer <i>reverse</i>	1,25 µL	52,5 µL
NFW	8 µL	336 µL
<i>Template DNA</i>	2 µL	2µL

#### 3.4.3.4 Amplifikasi PCR

Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan alat PCR *thermal cycler* dengan total volume reaksi sebesar 25 µl untuk setiap sampel yang terdiri dari 2 µl template DNA. Prosedur PCR dimulai dengan tahapan pre-denaturasi pada suhu 95°C selama 2 menit, diikuti oleh 35 siklus yang terdiri atas: denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu yang tercantum dalam table 6, serta ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit. Reaksi ditutup dengan tahap ekstensi akhir (*final*

*extension)* pada suhu 72°C selama 10 menit.

Tabel 6. Target Gen dan Primer Deteksi Gen Penyandi Resistansi Antibiotik

Gen	Sekuen Basa Primer	Amplikon (bp)	Kondisi Annealing	Referensi
<i>ampC</i>	(F) 5'- AATGGGTTTCTACGGTCTG-3' (R) 5'- GGGCAGCAAATGTGGAGCAA- 3'	191	55 °C 30 detik	Mulyana dkk., (2015)
<i>blaTEM</i>	(F) 5'- AATGGGTTTCTACGGTCTG-3' (R) 5'- GGGCAGCAAATGTGGAGCAA- 3'	1073	55 °C 1 menit	Beshiru dkk., (2020)
	(F) 5'- ATAAAATTCTTGAAGAC-3' (R) 5'-TTACCAATGCTTAATCA-3'			

**Keterangan:** bp = *base pairs*

#### 3.4.3.5 Elektroforesis Gel Agarose

Produk PCR yang dihasilkan dianalisis menggunakan teknik elektroforesis *agarose* 2% yang diwarnai dengan 4  $\mu$ l *florosafe DNA stain* (Axill Scientific, Singapore) yang disiapkan dalam larutan buffer TAE (*Tris-Acetate-EDTA*). *Marker* yang digunakan untuk elektroforesis yaitu 100 bp (GENEAIID, Taiwan). Visualisasi hasil dilakukan dengan pemindaian menggunakan alat *gel scanner*. Setiap sumur pada gel diisi dengan kontrol negatif, sampel DNA hasil PCR serta penanda ukuran (*DNA ladder*). Proses elektroforesis dijalankan selama 25 menit dengan menggunakan tegangan sebesar 100 volt. Setelah elektroforesis selesai, gel *agarose* direndam dalam akuades selama 5 menit untuk menghentikan reaksi pewarnaan. Pita DNA yang terbentuk diamati visualisasinya menggunakan alat *gel scanner* guna memverifikasi keberhasilan amplifikasi dan ukuran fragmen DNA yang dihasilkan.

### **3.5 Analisis Data**

Data dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik menggunakan Microsoft Office. Penyajian data mencakup hasil uji resistansi antibiotik serta deteksi gen penyandi resistansi  $\beta$ -laktam pada isolat *Vibrio parahaemolyticus*.

## **V. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Hasil uji fenotip menunjukkan dari 42 isolat *V. parahaemolyticus* dari udang dan lingkungan budidaya, sebanyak 33 isolat resistan, 6 isolat *intermediate* dan 3 isolat sensitif terhadap *ampicillin*. Seluruh isolat yang diuji menunjukkan sensitivitas terhadap antibiotik *amoxicillin-clavulanate acid, cefotaxime, ceftazidime, dan meropenem*.
2. Analisis PCR mendeteksi keberadaan gen *ampC* pada 13 isolat, sedangkan gen *blaTEM* tidak terdeteksi pada seluruh isolat. Kondisi ini memperlihatkan bahwa keberadaan gen *ampC* merupakan salah satu faktor yang berkontribusi terhadap resistansi *ampicillin* dan resistansi juga dapat disebabkan oleh faktor lain.
3. Dari 33 isolat yang resistan terhadap antibiotik *ampicillin*, 11 isolat positif membawa gen *ampC*, sementara 22 isolat tidak membawa gen *ampC* maupun *blaTEM*. Selain itu, terdapat 2 isolat (AP/1511/VII/24 dan AP/1509/VII/24) yang positif gen *ampC*, namun fenotipnya *intermediate* terhadap *ampicillin*. Hal tersebut mengindikasikan resistansi antibiotik  $\beta$ -laktam pada *V. parahaemolyticus* bersifat multifaktorial, melibatkan kombinasi faktor genetik, regulasi ekspresi gen dan mekanisme non-enzimatik.

## 5.2 Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk melengkapi analisis fenotipik dengan metode *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) agar diperoleh gambaran kuantitatif mengenai tingkat resistansi isolat terhadap antibiotik  $\beta$ -laktam.

Selain itu perlu dilakukan sekuensing gen *ampC* dan *blaTEM* resistansi guna memastikan variasi genetik serta mendeteksi adanya gen penyandi resistansi  $\beta$ -laktamase lain seperti *blaOXA*, *blaCTX*, *blaSHV* atau gen yang belum diuji dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abuljadayel, S., Saudi, A. A., & May, S. S. 2022. A comparative evaluation of the antimicrobial effect of six natural products in comparison to 2.5% sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. *Saudi Journal for Health Sciences*, 11(2), 125–130.
- Abushaheen, M. A., Fatani, A. J., Alosaimi, M., Mansy, W., George, M., Acharya, S., ... & Jhugroo, P. 2020. Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Disease-a-month*, 66(6), 100971.
- Amrullah, S. H., & Mar'iyah, K. 2023. Analisis Total Bakteri Vibrio Pada Sampel Air Tambak Udang Vaname Di Balai Perikanan Budi daya Air Payau Takalar. *Indigenous Biologi. Jurnal Pendidikan dan Sains Biologi*, 6(1), 8-14.
- Angaali, N., Vemu, L., Padmasri, C., Mamidi, N., & Teja, V. D. 2018. Direct identification and susceptibility testing of Gram-negative bacilli from turbid urine samples using VITEK2. *Journal of laboratory physicians*, 10(03), 299-303.
- Artawidia, I. D. P. A. R., & Handayani, N. U. 2024. Analisis Kapabilitas Proses Produksi Pakan Udang dengan Metode Statistical Process Control pada PT CPB. *Industrial Engineering Online Journal*, 13(1).
- Baker-Austin, C., Stockley, L., Rangdale, R., & Martinez-Urtaza, J. 2010. Environmental occurrence and clinical impact of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus*: a European perspective. *Environmental microbiology reports*, 2(1), 7-18.

- Baldwin, C. M., Lyseng-Williamson, K. A., & Keam, S. J. 2008. Meropenem: a review of its use in the treatment of serious bacterial infections. *Drugs*, 68, 803-838.
- Bereda, G. 2022. Clinical pharmacology of ampicillin. *Journal of Pharmaceutical Research & Reports*. 129 (3), 8-10.
- Beshiru, A., Okareh, O.T., Okoh, A. I., & Igbinosa, E. 2020. Detection of Antibiotic Resistance and Virulence Genes of Vibrio Strains Isolated from Ready- to – eat Shrimps in Delta and Edo States, Nigeria. *J. Appl. Microbiol*, 12(9), 17 – 36.
- Bradford, P. A. 2001. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical microbiology reviews*, 14(4), 933-951.
- Brumfield, K. D., Usmani, M., Chen, K. M., Gangwar, M., Jutla, A. S., Huq, A., & Colwell, R. R. (2021). Environmental parameters associated with incidence and transmission of pathogenic Vibrio spp. *Environmental microbiology*, 23(12), 7314-7340.
- Brunton, L. L., Knollmann, B. C., & Hilal-Dandan, R. (Eds.). 2018. *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics* (p. 7). New York, NY, USA:: McGraw-Hill Education.
- Bush, K., & Patricia, A. B. 2016.  *$\beta$ -Lactams and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors: An Overview*. Cold Springs Harb Perspect Med. 6(8).
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2021. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (31st ed.)*. CLSI Supplement M100.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015. *Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria. 3rd ed.* CLSI guideline M45. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

- Davies, B. I., Maesen, F. P. V., & Van Noord, J. A. 1983. Treatment of chronic and recurrent respiratory infections with intramuscular ceftazidime. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 12(1) 1-8.
- Deng, Y., Xu, H., Su, Y., Liu, S., Xu, L., Guo, Z., ... & Feng, J. 2019. Horizontal gene transfer contributes to virulence and antibiotic resistance of *Vibrio harveyi* 345 based on complete genome sequence analysis. *BMC genomics*, 20(1), 761.
- Direktorat Jenderal Perikanan Budi Daya. 2023. Indonesia Gandeng ADB untuk Tingkatkan Produksi Udang Nasional. [www.kkp.go.id/djpbi/](http://www.kkp.go.id/djpbi/). Diakses pada tanggal 29 April 2025.
- Drawz, S. M., & Bonomo, R. A. 2010. Three decades of  $\beta$ -lactamase inhibitors. *Clinical microbiology reviews*, 23(1), 160-201.
- Evan, Y., Soraya, S. D., Dinarti, & Suherman. 2014. *Diagnosa Mikrobiologi: Teknik Identifikasi Bakteri Secara Biokimiawi*. BPKIL.
- Fadrian. 2023. *Antibiotik, infeksi dan resistansi*. Padang: Andalas University Press.
- Guo, H., Fu, X., He, J., Wang, R., Yan, M., Wang, J., ... & Zhang, D. 2023. Gut bacterial consortium enriched in a biofloc system protects shrimp against *Vibrio parahaemolyticus* infection. *Microbiome*, 11(1), 230.
- Hadi, M. P. L. N. Fadlillah., M. Y. Widasmara., W.I. Muziasarri., & Subaryono. 2018. Potensi sumber bakteri resisten antibiotik berdasarkan kondisi kualitas air dan penggunaan lahan di Sungai Code, Yogyakarta: suatu tinjauan metodologis. *Jurnal Pengelolaan Lingkungan Berkelanjutan*. 2(1): 88-100.
- Hadiwinata, B., Sabariyah, N., Aulia, D., & Ritonga, R. A. 2023. *Vibrio parahaemolyticus Pada Produk Perikanan dan Akuakultur*. Arjuna Indonesia Mendunia.
- Hao, X., Cognetti, M., Patel, C., Jean-Charles, N., Tumati, A., Burch-Smith, R., Holton, M., & Kapoor, D. A. 2023. The essential role of PCR and PCR panel size in comparison with urine culture in identification of

- polymicrobial and fastidious organisms in patients with complicated urinary tract infections. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(18), 14269.
- Hasrimi, A. N., Budiharjo, A., & Jannah, S. N. 2017. Deteksi gen tlh dan tdh pada bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dari air tambak udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) di Kabupaten Rembang. *Jurnal Akademika Biologi*, 6(3), 85-95.
- Holmes, A. H., Moore, L. S. P., Sundsfjord, A., Steinbakk, M., Regmi, S., Karkey, A., Guerin, P. J., & Piddock, L. J. V. 2016. Understanding the Mechanisms and Drivers of Antimicrobial Resistance. *The Lancet*, 387(10014): 176–187.
- Hombach, M., Zbinden, R., & Böttger, E. C. 2013. Standardisation of disk diffusion results for antibiotic susceptibility testing using the sirscan automated zone reader. *BMC microbiology*, 13(1), 225.
- Hurst, M., & Lamb, H. M. 2000. Meropenem: a review of its use in patients in intensive care. *Drugs*, 59, 653-680.
- Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. 2005. Foodborne gastroenteritis caused by *Vibrio*, *Yersinia*, and *Campylobacter* species. *Modern Food Microbiology*, 657-678.
- Jacoby, G. A. 2009. AmpC beta-lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(1), 161–182.
- Jeong, H. W., Kim, J. A., Jeon, S. J., Choi, S. S., Kim, M. K., Yi, H. J., ... & Seo, K. H. 2020. Prevalence, antibiotic-resistance, and virulence characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* in restaurant fish tanks in Seoul, South Korea. *Foodborne pathogens and disease*, 17(3), 209-214.
- Joyanes, P., del Carmen Conejo, M., Martínez-Martínez, L., & Perea, E. J. 2001. Evaluation of the VITEK 2 system for the identification and susceptibility testing of three species of nonfermenting gram-negative rods frequently isolated from clinical samples. *Journal of clinical microbiology*, 39(9),

- 3247-3253.
- Joy, P. P., Surya, S., & Aswathy, C. 2015. *Laboratory Manual of Biochemistry*. Pineapple Research Station.
- Jung, S. W. 2018. A foodborne outbreak of gastroenteritis caused by *Vibrio parahaemolyticus* associated with cross-contamination from squid in Korea. *Epidemiology and health*, 40.
- Kah Sem, N. A. D., Abd Gani, S., Chong, C. M., Natrah, I., & Shamsi, S. 2023. Management and mitigation of vibriosis in aquaculture: nanoparticles as promising alternatives. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(16), 12542.
- Katzung, B. G., Vanderah, T. W., & Trevor, A. J. 2018. *Basic and Clinical Pharmacology* (14th ed.). New York: McGraw-Hill Education.
- Kim, H. S., Nagore, D., & Nikaido, H. 2010. Multidrug efflux pump MdtBC of *Escherichia coli* is active only as a B2C heterotrimer. *Journal of Bacteriology*, 192(5), 1377-1386.
- Kumar, S., & Kumar, A. (2024). *Automated Diagnostic Techniques in Medical Microbiology*. Springer Nature.
- Kurnianto, M. A., & Syahbanu, F. 2023. Resistansi antibiotik pada rantai pasok pangan: tren, mekanisme resistansi, dan langkah pencegahan. *Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 17(3), 608-621.
- Leekha, S., Terrell, C. L., & Edson, R. S. 2011. General Principles of Antimicrobial Therapy. *Mayo Clinic Proceedings*, 86(2), 156–167.
- Li, Y., Xie, T., Pang, R., Wu, Q., Zhang, J., Lei, T., ... & Wei, X. 2020. Food-borne *Vibrio parahaemolyticus* in China: prevalence, antibiotic susceptibility, and genetic characterization. *Frontiers in microbiology*, 11, 1670.
- Liu, Y., Ding, L., Han, R., Zeng, L., Li, J., Guo, Y., & Hu, F. 2023. Assessment of cefiderocol disk diffusion versus broth microdilution results when tested

- against *Acinetobacter baumannii* complex clinical isolates. *Microbiology Spectrum*, 11(6), e05355-22.
- Loo, K. Y., Tan, L. T. H., Law, J. W. F., Pusparajah, P., Lee, L. H., & Letchumanan, V. (2023). Detection of multidrug resistant *Vibrio parahaemolyticus* and anti-Vibrio Streptomyces sp. MUM 178J. *Progress In Microbes & Molecular Biology*, 6(1).
- Makkasau, N., Fernandez, S., Apt, S. F., & Apt, T. M. W. S. P. 2022. *Antibiotik dan Resistansi Antibiotik*. Rizmedia Pustaka Indonesia.
- Mege, R. A., Semuel, M. Y., Manampiring, N., & Adil, E. H. 2022. Isolation, Phenotypic Identification and Antibiotic Resistance Profile of Bacterial Isolates from Intestinal Fluids of Local Minahasa Pigs, North Sulawesi, Indonesia. *Journal of Pure & Applied Microbiology*, 16(2).
- Mulya, M. A., Pasaribu, F. H., Afiff, U., & Yuhana, M. 2022. Characterization and molecular detection of pathogenicity and antibiotic resistance genes in *Vibrio parahaemolyticus* isolated from Pacific white shrimp. *Akuakultur Indonesia*, 21(1), 81–92.
- Nitimulyo, K. H., Isnansetyo, A., Triyanto, T., Istiqomah, I., & Murdjani, M. 2005. Isolasi, identifikasi dan karakterisasi Vibrio spp. Patogen penyebab vibriosis pada kerapu di Balai Budi daya Air Payau Situbondo. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 7(1), 80-94.
- Pincus, D. H. 2006. Microbial identification using the bioMérieux Vitek® 2 system. *Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods*. Bethesda, MD: Parenteral Drug Association, 2006, 1-32.
- Poirel, L., Madec, J. Y., Lupo, A., Schink, A. K., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. 2018. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology spectrum*, 6(4), 10-1128.
- Prihatini, Aryati, & Hetty. 2007. Identifikasi cepat mikroorganisme menggunakan alat VITEK-2. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 13(3), 129–132.

- Putra, L. A. G., Christianus, J. Y., Nabila, I. N., Mochammad, H. R. F., & Jessica R. Y. 2020. A Review of the Development of Polymerase Chain Reaction Technique and Its Uses in Scientific Field. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*. 2(1) : 17 – 30.
- Putri, R. N., Wahidah, S. N., Al Hafidz, I. T., & Faisal, F. 2023. Uji Daya Hambat Antimikroba Secara Difusi Sumuran dan Difusi Paper Disk. *Era Sains: Jurnal Penelitian Sains, Keteknikan dan Informatika*. 1(4): 28-33.
- Ramadhaniah, V., Indrawati, A., & Prasetyo, B. F. 2024. Uji Resistansi Antibiotik Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dari Udang Putih (Litopaneus Vannamei) Serta Identifikasi Gen Penyandi Resistan Ampisilin. *Acta VETERINARIA Indonesiana*, 12(2), 97-105.
- Rozanah, A. F. 2016. Uji Aktofitas dan Identifikasi Senyawa Aktif Fraksi Daun Mangrove Menengan (Excoecaria agallocha) Terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Universitas Brawijaya. Skripsi.
- Silvester, R., Antony, A. C., Yousuf, J., Madhavan, A., Sooria, P. M., Kokkat, A., ... & Hatha, M. 2021. Survival Kinetics of Vibrio Species in a Tropical Estuary along the Southwest coast of India-as a function of selected Environmental Factors. *Fishery Technology*. 58, 40-47.
- Siregar, T., Siswoyo, B. H., & Syafitri, E. 2021. Isolasi Dan Identifikasi *Vibrio parahaemolyticus* pada Udang Vaname (Litopenaeus vannamei) Penyebab Penyakit Vibriosis. *Jurnal Aquaculture Indonesia*, 1(1), 7-14.
- Takwin, B. A., Wahjuningrum, D., Widanarni, W., & Nasrullah, H. 2024. The potential of bacteriophage for controlling *Vibrio parahaemolyticus* as in-vitro. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 23(2), 122-133.
- Tamma, P. D., Beisken, S., Bergman, Y., Posch, A. E., Avdic, E., Sharara, S. L., ... & Simner, P. J. 2021. Modifiable risk factors for the emergence of ceftolozane-tazobactam resistance. *Clinical Infectious Diseases*, 73(11), e4599-e4606.
- Tan, C. W., Rukayadi, Y., Hasan, H., Thung, T. Y., Lee, E., Rollon, W. D., Hara,

- H., Kayali, A. Y., Nishibuchi, M., & Radu, S. (2020). Prevalence and antibiotic resistance patterns of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from different types of seafood in Selangor, Malaysia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(6), 1602–1608.
- Tang, K. W. K., Beverley, C. M., & John , E. M. 2023. Antimicrobial Resistance (AMR). *British Journal of Biomedical Science*. 11387(80), 1-11.
- Tenover, F. C. 2006. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *The American Journal of Medicine*, 119(6), S3–S10.
- Ventola, L. C. 2015. Antibiotic Resistance Crisis. *Pharmacy and Therapeutics*. 40(4): 277–283.
- Vengadasamy, V., Tan, L. T. H., Law, J. W. F., Ser, H. L., Letchumanan, V., and Pusparajah, P. 2021. Incidence, antibiotic susceptibility and characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seafood in Selangor, Malaysia. *Progress In Microbes & Molecular Biology*. 4(1).
- Verraes, C., Van Boxstael, S., Van Meervenne, E., Van Coillie, E., Butaye, P., Catry, B., de Schaetzen, M. A., X. Van Huffel, H. Imberechts, K. Dierick, G. Daube, C. Saegerman, J. De Block, J. Dewulf, and L. Herman. 2013. Antimicrobial resistance in the food chain: A review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 10(7): 2643–2669.
- World Health Organization (WHO). 2023. *Critically Important Antimicrobials for Human Medicine (7th ed.)*. Geneva: WHO.
- World Health Organization. 2021. Antimicrobial Resistance. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Diakses pada 30 April 2025.
- Yuenleni, Y. 2019. Langkah-Langkah Optimasi PCR. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(3), 51-56.