

## RESISTENSI ANTIBIOTIK PADA *Vibrio parahaemolyticus* DARI UDANG VANAME ASAL PANTAI UTARA JAWA UNTUK PASAR EKSPOR

### ***Antibiotic Resistance in Vibrio parahaemolyticus from Vannamei Shrimp Originated from Northern Coast of Java for Export Market***

Arifah Kusmarwati\*, Yusma Yennie, dan Ninoek Indriati

Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan,  
Badan Riset dan Sumber Daya Manusia Kelautan dan Perikanan  
Jl.KS.Tubun Petamburan VI Jakarta Pusat 10250

\* Korespondensi Penulis: akusmarwati@gmail.com

Diterima: 31 Mei 2017; Direvisi: 15 September 2017; Disetujui: 24 November 2017

#### ABSTRAK

Keberadaan bakteri *V. parahaemolyticus* pada produk udang yang bersifat resisten terhadap antibiotik saat ini menjadi permasalahan serius yang berdampak pada jaminan mutu dan keamanan produk. Hal ini menjadi ancaman serius bagi manusia ketika mengkonsumsi udang tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui resistensi antibiotik dan potensi risiko antibiotik dari bakteri *V. parahaemolyticus* pada udang vaname. Pengambilan sampel udang vaname segar dari tambak dilakukan pada musim hujan dan musim kemarau di wilayah Pantai Utara Jawa pada bulan Februari hingga Oktober 2015 dengan metode *purposive random sampling*. Sebanyak 36 isolat bakteri *V. parahaemolyticus* yang mewakili 103 sampel udang vaname segar dari tambak udang di Jawa Barat, Jawa Tengah dan Jawa Timur telah diuji resistensinya terhadap 8 jenis antibiotik (doksisisiklin, nitrofurantoin, siprofloksasin, asam nalidiksik, amoksisilin-asam klavulanat, kloramfenikol, streptomisin, dan eritromisin). Uji kepekaan bakteri terhadap antibiotik dilakukan menggunakan metode Kirby-Bauer. Perhitungan indeks *Multiple Antibiotic Resistance* (MAR) juga dilakukan untuk mengetahui potensi risiko antibiotik terhadap kesehatan manusia. Hasil analisis menunjukkan bahwa 100% isolat bakteri yang diuji resisten terhadap streptomisin, 90% isolat resisten terhadap eritromisin, dan berikutnya resisten terhadap amoksisilin-asam klavulanat dan nitrofurantoin masing-masing sebesar 83,33% dan 58,33%. Terdapat beberapa antibiotik yang masih mampu melawan bakteri *V. parahaemolyticus* yaitu siprofloksasin (88,89%), kloramfenikol (81,25%) dan doksisisiklin (33,33%). Selain itu, sebanyak 63,89% dari total isolat bakteri tersebut memiliki indeks MAR > 0,2 yang mengindikasikan adanya potensi risiko bagi kesehatan. Secara keseluruhan, bakteri *V. parahaemolyticus* dari sampel yang diambil pada musim hujan menunjukkan resistensi yang lebih tinggi.

**KATA KUNCI :** *multiple antibiotic resistance, udang, tambak, kloramfenikol*

#### ABSTRACT

Recently, the occurrence of *V. parahaemolyticus* bacteria in shrimp products that was resistant to antibiotics became a serious problem that affects quality assurance and product safety. It will be a serious threat to humans when consuming the shrimp product. Research was conducted to know antibiotic resistance and antibiotic risk potency of *V. parahaemolyticus* bacteria on *vannamei* shrimp. Sampling of fresh *vannamei* shrimp from the ponds was conducted in rainy and dry season in the Northern Coast of Java from February to October 2015 with *purposive randomize sampling* method. A total of 36 isolates of *V. parahaemolyticus* bacteria representing 103 samples of fresh *vannamei* shrimp from shrimp ponds in West Java, Central Java and East Java have been tested for resistance to 8 types of antibiotics (doxycycline, nitrofurantoin, ciprofloxacin, nalidixic acid, amoxicillin-clavulanic acid, chloramphenicol, streptomycin, and erythromycin). Antibiotic susceptibility test was performed using Kirby-Bauer method. Calculation of Multiple Antibiotic Resistance Index (MAR) was also conducted to determine the potential risks of antibiotics to the human health. The results showed that 100% of isolates tested were resistant to streptomycin, 90% of the isolates were resistant to erythromycin, and subsequently resistant to amoxicillin-clavulanic acid, and nitrofurantoin respectively (83.33% and 58.33%). Several antibiotics were still able to resist *V. parahaemolyticus* i.e ciprofloxacin (88,89%), chloramphenicol (81,25%) and doxycycline (33,33%). In addition, a total 63.89% of bacterial isolates have a MAR index > 0,2 indicating potential health risks. Overall, *V. parahaemolyticus* that was taken from rainy season showed high resistance.

**KEYWORDS:** *multiple antibiotic resistance, shrimp, ponds, chloramphenicol*

## PENDAHULUAN

Di Indonesia udang merupakan salah satu komoditas utama ekspor. Pada tahun 2014 total produksi udang Indonesia mencapai 645 ribu ton dengan nilai ekspor terbesar ke Negara Amerika Serikat sebesar US\$ 938 juta dengan total volume 77 ribu ton (Katadata KKP, 2016). Sementara itu udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) menjadi salah satu spesies udang unggulan nasional (Fendjalang, Budiardi, Supriyono, & Eddy, 2016). Menurut informasi dari Dinas Kelautan dan Perikanan Kabupaten Sidoarjo Jawa Timur, udang vaname sebagian besar dibudidayakan di tambak udang intensif di wilayah Pantai Utara Jawa, dan sejumlah besar tambak udang wilayah ini merupakan penyuplai udang vaname asal Indonesia untuk tujuan ekspor.

*Vibrio parahaemolyticus* merupakan bakteri alami di lingkungan perairan payau dan pantai dan menjadi salah satu spesies *Vibrio* spp. yang bersifat patogen terhadap komoditas udang maupun manusia (Ceccarelli, Hasan, Hug, & Colwell, 2013; DePaola Kaysner, Bowers, & Cook, 2000). Bakteri ini terdapat secara alami di lingkungan perairan dan seringkali dijumpai di lingkungan budidaya udang (Abu & Egenonu, 2008; Chitov, Wongdao, Thatum, Puprae, & Sisuwan, 2009; Newton, Kendall, Vugia, Henao, & Maho, 2012). Pesatnya usaha budidaya udang vaname berkaitan dengan permintaan udang untuk pasar ekspor yang selanjutnya membawa konsekuensi pada penggunaan senyawa antibiotik yang cukup tinggi. Penggunaan senyawa antibiotik berkaitan dengan keberadaan bakteri vibrio yang bersifat patogen di area tambak. Antibiotik tersebut digunakan untuk tindakan pencegahan dan pengobatan penyakit ataupun peningkatan pertumbuhan udang (Rodrigues de Melo et al., 2011). Di Eropa dan Amerika Utara kira-kira sebanyak 50% dari seluruh produksi antibiotik digunakan dalam produksi hewan untuk pangan dan peternakan (European Federation of Animal Health, 1998). Namun, penggunaan antibiotik yang tidak tepat/ terkontrol dan terus menerus pada budidaya udang berkontribusi terhadap berkembangnya strain vibrio yang resisten (Rocha, Sousa, & Vieira, 2016; Rodrigues de Melo et al., 2011). Zafran, Roza, dan Koesharyani. (1997) melaporkan bahwa beberapa jenis antibiotik yang secara rutin banyak diterapkan oleh petani benih udang komersial di Indonesia dapat menyebabkan munculnya strain vibrio yang resisten terhadap antibiotik. Beberapa isolat bakteri vibrio yang berhasil diisolasi dari petani benih komersial di Bali dan Jawa Timur tersebut memperlihatkan resistensi terhadap 3 jenis antibiotik, yaitu kloramfenikol (CP), oksitetrasiklin (OTC), dan furazolidon (FZ) masing-masing dengan dosis sebesar 1,9 ppm; 9,8 ppm dan

15 ppm. Sementara Rocha et al. (2016) melaporkan sebanyak 70 strain *Vibrio* yang berasal dari sampel air dan sedimen di lingkungan tambak udang Brazil resisten terhadap salah satu antibiotik seperti ampisilin (Amp), siprofloksacin (Cip), kloramfenikol (Clo), nitrofurantoin (Nit), gentamisin (Gen), oksitetrasiklin (Otc), tetracycline (Tet), dan streptomisin (Str). Sementara Yano et al. (2014) menemukan *V. parahaemolyticus* di lingkungan tambak udang resisten terhadap ampisilin dan oksitetrasiklin (72% dan 3%). Resistensi antibiotik dilaporkan terjadi pada beberapa spesies *Vibrio* di antaranya *Vibrio cholera*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis* dan *V. campbelli* (Kang, Kim, Oh, Mok, & Cho, 2014; Quiroz-Guzman, Balcazar, Azquez-Juarez, Cruz-Villacorta, & Martínez-Díaz, 2013; Reboucas et al., 2011; Wang et al., 2015; Yano et al., 2014). Penggunaan senyawa antibiotik secara luas pada budidaya udang juga dapat menghasilkan infeksi pada manusia dan berpengaruh terhadap kesehatan manusia (European Federation of Animal Health, 1998; WHO, 2001). Pada tahun 2009 terjadi penolakan komoditas ekspor udang Indonesia oleh RASFF (*Rapid Alert System for Food and Feed*) Uni Eropa yang disebabkan oleh keberadaan antibiotik nitrofurantoin, kloramfenikol, dan *malacite green* dan *Vibrio parahaemolyticus* (Sunorita & Tjarsono, 2014).

Saat ini *Multiple Antibiotic Resistance* (MAR) pada bakteri menjadi perhatian utama dan resistensi menjadi masalah serius yang mengancam sistem pengobatan modern (WHO, 2014). Hal ini disebabkan mikroorganisme resisten mampu tumbuh pada konsentrasi antibiotik yang biasanya cukup untuk membunuh mikroorganisme tersebut (EFSA & ECDC, 2009). Kegagalan *treatment* seringkali terjadi akibat resistensi antibiotik bahkan berpeluang pada kematian (Smith & Coast, 2012). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui resistensi antibiotik dan potensi risiko antibiotik dari bakteri *V. parahaemolyticus* pada udang vaname untuk pasar ekspor yang berasal dari tambak udang Pantai Utara Jawa.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) segar yang diperoleh dari tambak udang intensif dan semi intensif yang berasal dari Pantai Utara Jawa. Sampel udang yang berasal dari Indramayu, Karawang, Brebes, Sidoarjo dan Lamongan merupakan sampel tambak udang intensif, sementara sampel udang yang berasal dari Tuban merupakan sampel tambak udang semi intensif. Jenis udang yang

diambil adalah udang vaname siap panen dengan umur pemeliharaan 53-108 hari. Media yang digunakan antara lain : medium chromagar vibrio, *alkaline pepton water* (APW), akuades, gel agarose, buffer TBE (*Tris Boric Acid EDTA*), primer dan *tag polymerase*.

## Metode

### Koleksi sampel dan preparasi sampel

Sebanyak 103 sampel udang vaname segar telah dikumpulkan dari tambak udang intensif dan semi intensif yang berasal dari Pantai Utara Jawa. Sampel tersebut diambil dari lokasi yang berbeda pada bulan Februari hingga Oktober 2015. Sampel diambil pada musim hujan dan musim kemarau dengan tujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pola resistensi terhadap beberapa jenis antibiotik. Berdasarkan penelitian terdahulu ditemukan sebanyak 62 sampel positif *V. parahaemolyticus* dari 91 sampel tipikal vibrio yang diuji dengan chromogenik agar vibrio (Kusmarwati, Hermana, Yennie, & Wibowo, 2016). Pada penelitian ini, digunakan sebanyak 36 sampel dari 62 sampel positif tersebut yang diambil secara *purposive random* untuk analisis resistensi antibiotik. Sebanyak 21 sampel diambil pada musim hujan dan 15 sampel diambil pada musim kemarau. Pengambilan sampel pada kedua musim dimaksudkan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pola resistensi antibiotik pada musim yang berbeda. Seluruh sampel yang diuji berasal dari tambak udang Indramayu, Karawang, Brebes, Sidoarjo, Lamongan dan Tuban. Suhu perairan, pH dan salinitas diukur pada setiap lokasi sampling masing-masing menggunakan termometer, pH dan refraktometer. Setiap sampel yang diperoleh dengan berat sekitar 400-500 gram disimpan dalam plastik steril yang telah diberi kode. Kecuali sampel Indramayu, Karawang, dan Brebes yang disimpan dalam *coolbox* dengan es curah, maka seluruh sampel yang lain segera dibekukan sebelum ditransportasikan ke laboratorium untuk dilakukan analisis.

### Enumerasi dan isolasi *V. parahaemolyticus*

Seluruh sampel dianalisis potensinya sebagai *V. parahaemolyticus* berdasarkan metode SNI (BSN, 2006). Sementara perhitungan konsentrasi bakteri dilakukan berdasarkan metode *Most Probable Number* (US FDA, 2015). Metode MPN dengan 3 seri tabung pada penelitian ini dilakukan pada media *Alkaline Peptone Water* (APW) *enrichment broth* masing-masing sebanyak 3 ulangan. Sampel yang menunjukkan kekeruhan pada media APW *enrichment broth* digores pada media *chrom agar vibrio* dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Koloni yang berwarna ungu kemerahan pada media

selektif *chrom agar vibrio* tersebut merupakan presumtif *V. parahaemolyticus*. Koloni yang merupakan presumtif *V. parahaemolyticus* kemudian disub kultur pada media agar miring *Tryptic Soy Agar* (TSA, Oxoid, England) ditambah 2,5% NaCl untuk selanjutnya dilakukan konfirmasi *V. parahaemolyticus* menggunakan metode PCR. Konfirmasi *V. parahaemolyticus* baik patogen maupun non patogen dilakukan dengan metode PCR melalui deteksi gen *toxR* (Kim et al., 1999), *tdh* dan *trh* (Tada et al., 1992). Isolat bakteri tersebut kemudian digunakan untuk pengujian *antibiotic susceptibility*.

### Uji sensitifitas bakteri terhadap antibiotik

Uji sensitifitas antimikroba dilakukan dengan menggunakan kertas cakram difusi (*discs diffusion*) dengan media Mueller Hinton Agar. Isolat-isolat bakteri *V. parahaemolyticus* diuji menggunakan 8 macam antibiotik, yaitu : doksisisiklin (DO: 10 mg/disc), nitrofurantoin (F: 300 mcg/disc), siprofloksasin (CIP: 5 mg/disc), asam nalidiksat (NA:10 mcg/disc), amoksisilin-asam klavulanat (AMC: 10 mg/disc), kloramfenikol (C: 30 mcg/disc), streptomisin (S:15mcg/disc), dan eritromisin (E: 15 mcg/disc). Kultur bakteri *V. parahaemolyticus* yang tumbuh pada *tryptone soy broth* dengan inkubasi semalam dituang pada media Muller Hinton Agar. Setelah 30 menit *disk antibiotic* tersebut diletakkan pada permukaan *plate* agar kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37 °C. Setelah diinkubasi, zona hambat bakteri diukur dan dibandingkan dengan grafik interpretasi (Stalin & Srinivasan, 2016).

## HASIL DAN BAHASAN

### Lokasi sampling dan parameter fisiko kimia

Pada penelitian ini, sebanyak 36 sampel isolat *V. parahaemolyticus* (21 sampel musim hujan dan 15 sampel musim kemarau) yang diisolasi dari sampel udang vaname segar telah dikumpulkan dari tambak udang intensif dan semi intensif di wilayah Pantai Utara Jawa (Indramayu (n = 6 sampel), Karawang (n = 6 sampel), Brebes (n = 7 sampel), Sidoarjo (n = 5 sampel), Lamongan (n = 4 sampel), dan Tuban (n = 8 sampel)).

Hasil analisis fisiko kimia (temperatur dan pH air) disajikan pada Tabel 1. Temperatur dan pH air dari beberapa lokasi tidak memperlihatkan perbedaan yang sangat signifikan. Namun pada musim kemarau khususnya di wilayah Tuban temperatur relatif lebih tinggi dan mendekati optimum (37 °C). Parameter fisiko kimia seperti temperatur dan pH memiliki hubungan dengan resistensi antibiotik meskipun secara tidak langsung. Indonesia yang dikenal sebagai wilayah tropis dalam hal ini sangat berpotensi

Tabel 1. Parameter fisiko kimia

Table 1. Chemical physics parameters

Lokasi/ Location	Bulan/ Month	Musim hujan/Rainy season		Bulan/ Month	Musim kemarau/Dry season	
		Temperatur/ Temperature (°C)	pH		Temperatur/ Temperature (°C)	pH
Indramayu	Februari/February	27.0-28.0	8.1-8.3	Agustus/August	28.0	8.1-8.2
Karawang	Maret/March	27.0-29.0	8.3	Agustus/August	28.9-29.9	8.1-8.6
Brebes	Maret/March	27.0-28.0	8.1-8.3	Agustus/August	28.9-29.7	8.3-8.6
Sidoarjo	Maret/March	25.0-28.0	7.8-8.6	September/September	29.0-29.4	8.0-8.6
Lamongan	Maret/March	28.0-29.0	7.9-8.8	Oktober/October	30.1-32.0	8.2-8.4
Tuban	Maret/March	29.0-32.6	8.4-9.2	Oktober/October	31.3-34.4	8.2-9.0

Sumber/Source : Kusmarwati et al. (2016)

menyebabkan tingginya prevalensi *V. parahaemolyticus*. Hal ini dimungkinkan oleh tingginya suhu air laut (25-34 °C) dan pH perairan yang mendekati optimum (7,8-8,6) sehingga menyebabkan *V. parahaemolyticus* akan selalu terdeteksi dan terdistribusi sepanjang tahun. Suhu perairan yang tinggi dengan iklim tropis seperti Asia Tenggara juga menjadi faktor utama tingginya persentase *V.*

*parahaemolyticus* (Kusmarwati et al., 2016; Ronald & Santos, 2001; Wong, Chen, Liu, & Liu, 1999; Zulkifli et al., 2009). Tingginya prevalensi *V. parahaemolyticus* memungkinkan peluang terjadinya resistensi antibiotik pada bakteri tersebut menjadi besar apabila penggunaan antibiotik untuk tindakan pencegahan/pengobatan penyakit pada budidaya udang di perairan tersebut tidak terkontrol/tidak tepat.

Tabel 2. Jumlah *V. parahaemolyticus* pada sampel udang di musim hujan dan kemarauTable 2. The number of *V. parahaemolyticus* in shrimp samples at rainy and dry seasons

Lokasi/ Location	Pengambilan Sampel/ Samples Taken	Kode sampel/ Sampling Code	Jumlah <i>V. parahaemolyticus</i> / Number of <i>V. parahaemolyticus</i> (MPN/g)		
			Musim hujan/Rainy season	Musim kemarau/Dry season	
			Kode sampel/ Sampling Code	Jumlah <i>V. parahaemolyticus</i> / Number of <i>V. parahaemolyticus</i> (MPN/g)	
Indramayu	Tambak/Pond	A1	74	IDR1	43
		A2	1100	IDR4	1100
		B2	23	IDR5	1100
Karawang	Tambak/Pond	T2	11	KR1	7.2
		T3	21	KR3	6.2
		T5	11	KR9	1100
Brebes	Tambak/Pond	PS1	1100	RSK1	240
		PS4	1100	KLWL2	1100
		RK1	1100	LW1	1100
Sidoarjo	Tambak/Pond	SD2	1100	BRB2	7.2
		PC1	43	BRB4	150
		PC2	1100		
Lamongan	Tambak/Pond	BR2	75		
		LM1	460	*)	*)
		LM7	93		
LM8	150				
Tuban	Tambak/Pond	TBA1	1100	TBJ1	1100
		TBB2	1100	TBG1	1100
		TBC1	460	TBG2	1100
		TBC4	93	TBG3	1100

Keterangan/Note: \*) data tidak diperoleh/the data were not found

### Karakterisasi bakteri *V. parahaemolyticus*

*Vibrio parahaemolyticus* secara luas terdistribusi di lingkungan laut dan sering ditemukan pada *seafood* mentah atau dimasak setengah matang. Konsumsi *seafood* yang secara alami telah terkontaminasi oleh *V. parahaemolyticus* mengakibatkan terjadinya gastroenteritis yang kemudian diikuti diare, muntah, sakit perut, mual dan sakit kepala (Fujino et al., 1953; Su & Liu, 2007; Tiruvayipati et al., 2013). Dilaporkan bahwa *V. parahaemolyticus* strain O3:K6 dapat menyebabkan gastroenteritis akut (Matsumoto et al., 2000). Mikroba ini juga dilaporkan menjadi penyebab infeksi kulit, dan septisemia yang disebabkan oleh konsumsi *seafood* yang terkontaminasi. Strain *V. parahaemolyticus* mampu menyebabkan *outbreak* infeksius karena keberadaan gen *tdh* dan/atau *trh* (Nishibuchi & Kaper, 1995). Oleh karena itu *V. parahaemolyticus* yang patogen dan potensial virulen pada *seafood* mentah berpengaruh sangat signifikan bagi kesehatan masyarakat (Tiruvayipati et al., 2013).

Total *V. parahaemolyticus* (*toxR*) pada udang vaname disajikan pada Tabel 2. Total *V. parahaemolyticus* di tambak udang Indramayu pada musim hujan berkisar 23 - 1100 MPN/g dan pada musim kemarau berkisar 43 - 1100 MPN/g. Pada tambak udang Karawang, total *V. parahaemolyticus* di musim hujan berkisar 11 - 21 MPN/g dan di musim kemarau pada kisaran 6,2 - 1100 MPN/g. Total *V. parahaemolyticus* di tambak udang Brebes pada musim hujan relatif sama mencapai 1100 MPN dan pada musim kemarau berkisar 240 - 1100 MPN/g. Total *V. parahaemolyticus* di tambak

udang Sidoarjo pada musim hujan berkisar 43 - 1100 MPN/g dan pada musim kemarau berkisar 7,2 - 150 MPN/g. Sementara itu total *V. parahaemolyticus* di tambak Lamongan pada musim hujan berkisar 75 - 460 MPN/g. Total *V. parahaemolyticus* di tambak Tuban pada musim hujan berkisar 93-1100 MPN/g sedangkan jumlahnya pada musim kemarau relatif sama mencapai 1100 MPN/g. Pengaruh temperatur terhadap patogenisitas (Tabel 3) pada penelitian ini serupa dengan hasil penelitian Caburlotto et al. (2016) yang melaporkan bahwa sampel positif *V. parahaemolyticus* dari sampel udang yang berasal dari Laut Adriatik Utara dan Danau Venetia Utara, Italia terkonsentrasi di musim panas dan musim gugur (Juni-November 2012), tetapi juga terdeteksi pada bulan Maret dan Desember 2012. Pada periode Juli hingga Desember di samping memiliki prevalensi yang tinggi juga memiliki nilai MPN tertinggi dengan peningkatan hingga bulan September, dan menurun secara tetap hingga akhir tahun.

Berdasarkan hasil penelitian terdahulu diketahui bahwa prevalensi *V. parahaemolyticus* dengan gen *tdh* dan *trh* cukup besar yakni mencapai 3,23% dan 1,61% (Kusmarwati et al., 2016). Sementara laporan lain menyebutkan prevalensi *V. parahaemolyticus* dengan kedua gen *tdh* dan *trh* dari sampel air dan *seafood* yang berasal dari Tunisia sebesar 1/22 (0,88%) (Khouadja et al., 2013). Namun berdasarkan hasil penelitian ini secara keseluruhan insidensi total jumlah *V. parahaemolyticus* pada udang vaname pada sistem tambak adalah rendah pada musim hujan dan meningkat pada musim kemarau. Hal ini serupa

Tabel 3. Pengaruh temperatur terhadap patogenisitas  
Table 3. Effect of temperature on pathogenicity

Lokasi/Location	Musim/Season	Temperatur/Temperature	<i>tdh/trh</i>
Indramayu	Hujan/ <i>rainy season</i>	27.0-28.0	<i>tdh</i> -/ <i>trh</i> -
	Kemarau/ <i>dry season</i>	28.0	<i>tdh</i> -/ <i>trh</i> -
Karawang	Hujan/ <i>rainy season</i>	27.0-29.0	<i>tdh</i> -/ <i>trh</i> -
	Kemarau/ <i>dry season</i>	28.9-29.9	<i>tdh</i> -/ <i>trh</i> -
Brebes	Hujan/ <i>rainy season</i>	27.0-28.0	<i>tdh</i> -/ <i>trh</i> -
	Kemarau/ <i>dry season</i>	28.9-29.7	<i>tdh</i> -/ <i>trh</i> -
Sidoarjo	Hujan/ <i>rainy season</i>	25.0-28.0	<i>tdh</i> -/ <i>trh</i> -
	Kemarau/ <i>dry season</i>	29.0-29.4	<i>tdh</i> -/ <i>trh</i> -
Lamongan	Hujan/ <i>rainy season</i>	28.0-29.0	<i>tdh</i> -/ <i>trh</i> -
	Kemarau/ <i>dry season</i>	30.1-32.0	<i>tdh</i> -/ <i>trh</i> -
Tuban	Hujan/ <i>rainy season</i>	29.0-32.6	<i>tdh</i> -/ <i>trh</i> -
	Kemarau/ <i>dry season</i>	31.3-34.4	<i>tdh</i> +/ <i>trh</i> +

dengan Stalin dan Srinivasan (2016) yang menyebutkan total jumlah presumtif *Vibrio* meningkat pada musim panas (kemarau) namun menurun pada musim dingin (hujan).

### Pengaruh temperatur terhadap patogenisitas

Semua isolat *V. parahaemolyticus* dari berbagai lokasi penelitian tumbuh pada suhu 27,0-34,4 °C (Tabel 3). Hal ini sejalan dengan Lake, Hudson, dan Cressey, (2003) yang mengemukakan bahwa pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* terjadi pada kisaran suhu 5-43 °C.

Berdasarkan Tabel 3, *V. parahaemolyticus* non patogen (*toxR*) lebih banyak dijumpai pada musim hujan, seperti ditemukan di wilayah Tuban dan di beberapa lokasi lain. Sementara *V. parahaemolyticus* yang bersifat patogen (mengandung gen *tdh* atau *trh*) hanya ditemukan di wilayah Tuban pada musim kemarau. Hal ini diduga karena pengaruh suhu air tambak di wilayah tersebut pada musim kemarau mendekati kondisi optimum (37 °C). Kondisi suhu air tambak yang lebih tinggi di wilayah ini meningkatkan peluang munculnya strain yang bersifat virulen, sebagaimana dikemukakan oleh Yu et al. (2015). Keberadaan *V. parahaemolyticus* patogenik di wilayah tersebut kemungkinan disebabkan kurangnya penerapan praktek budidaya yang baik (*Good Aquaculture Practices/GAP*) oleh petambak (Yennie, Hariyadi, & Poernomo, 2015).

Berbeda dengan tambak wilayah Indramayu, Karawang (Jawa Barat) dan Brebes (Jawa Tengah), Sidoarjo dan Lamongan (Jawa Timur) yang pada umumnya telah menerapkan GAP secara baik, tambak udang di wilayah Tuban tidak dilengkapi dengan tempat penampungan air sementara sebelum dialirkan ke areal tambak, sehingga air laut langsung masuk ke areal tambak tanpa diberi perlakuan terlebih dahulu. Kondisi ini menyebabkan air yang digunakan tidak memenuhi persyaratan kualitas air untuk budidaya udang, sehingga memungkinkan potensi keberadaan *V. parahaemolyticus* patogenik di tambak tersebut menjadi cukup besar. Secara keseluruhan, keberadaan *V. parahaemolyticus* patogen yang relatif rendah pada penelitian ini sesuai dengan Miyamoto et al. (1969); Shirai et al. (1990) dan Nishibuchi dan Kaper (1995) yang menyebutkan strain patogen dari sampel *seafood* dan lingkungan sangat jarang ditemukan (hanya sekitar 1-5%). Hal ini disebabkan karena keberadaan strain patogen di lingkungan perairan payau berada pada level yang sangat rendah dibandingkan dengan strain non patogen, atau disebabkan strain patogen tersebut lebih bersifat sensitif terhadap kondisi distropik dalam lingkungan akuatik dan lebih cepat menjadi *non-culturable* dan menjadi sulit diisolasi (Hackney & Dicharry, 1988;

Pace & Chai, 1989). Lebih jauh Raghunath (2015) mengemukakan bahwa faktor host seperti *bile* atau komponen asam *bile* mungkin dapat memicu pelepasan faktor virulen dari kondisi dorman dan meningkatkan virulensi bakteri tersebut.

Bakteri *V. parahaemolyticus* non patogen pada umumnya terdeteksi pada musim hujan (dengan temperatur yang relatif lebih rendah), sedangkan bakteri *V. parahaemolyticus* yang bersifat patogen lebih cenderung ditemukan pada musim kemarau ketika suhu air tambak mendekati kondisi optimum (37 °C). Yu et al. (2015) mengemukakan kondisi temperatur lingkungan yang lebih tinggi meningkatkan peluang munculnya strain yang bersifat virulen. Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa suhu lingkungan perairan tambak yang relatif lebih tinggi pada musim kemarau berpengaruh terhadap patogenisitas bakteri tersebut. Hasil penelitian ini sejalan dengan Lopez-Hernandez et al. (2015) yang melaporkan bahwa prevalensi *V. parahaemolyticus* dengan gen *tdh+*/*trh-* yang tinggi (8,33%) telah ditemukan selama musim kering dengan kisaran suhu 18,9-30,2 °C. Kemudian *V. parahaemolyticus* dengan gen *tdh+*/*trh+* sebesar 0,42% yang ditemukan pada musim yang sama. Menurut Mekalanos (1992) dan Sung, Chang, dan Lan (2004) terjadinya virulensi merupakan respon dari adanya stressor lingkungan. Stressor lingkungan pada vibrio seperti pH, suhu, salinitas dan bikarbonat dapat meningkatkan produksi toksin (Abuaita & Withey, 2009; Whitaker, Parent & Naughton, 2010). Selain itu kontaminan industri dan pestisida di lingkungan juga dapat menginduksi munculnya respon stress terkait virulensi (Ford, 2000).

Meskipun mekanisme *V. parahaemolyticus* dalam menimbulkan penyakit tidak sepenuhnya dipahami, namun dilaporkan bahwa isolat klinis lebih sering memproduksi *Thermostable Direct Hemolysin (TDH)* atau *TDH-Related Hemolysin (TRH)* yang keduanya dikode oleh gen *tdh* dan *trh* (Zhang & Austin, 2005). *TDH* dan *TRH* keduanya dipertimbangkan sebagai faktor virulen utama dari *V. parahaemolyticus* (Ceccarrelli et al., 2013). Terdapat korelasi kuat antara patogenitas dan kehadiran gen *tdh* atau gen *trh* atau kehadiran keduanya (Yu et al., 2015). Terkait dengan resistensi antibiotik, berdasarkan hasil penelitian ini resistensi antibiotik tidak hanya dijumpai pada bakteri yang bersifat patogen, namun yang tidak bersifat patogenpun resisten terhadap antibiotik.

### Pola Resistensi Bakteri terhadap Antibiotik

Berdasarkan Tabel 4 dan 5, hasil uji resistensi bakteri *V. parahaemolyticus* terhadap beberapa antibiotik menunjukkan adanya pola resistensi yang sedikit berbeda antara kedua musim.

Pada penelitian ini, bakteri *V. parahaemolyticus* yang menunjukkan resistensi lebih tinggi terjadi pada

Tabel 4. Profil resistensi antibiotik isolat *V. parahaemolyticus* dari udang tambak pada musim hujan  
Table 4. Antibiotic resistance profile of *V. parahaemolyticus* isolate from shrimp at rainy season

Lokasi/ Location	Kode sampel/ Sampling code	Zona hambat/ Zone of inhibition (mm)							
		DO	F	CIP	NA	AMC	C	S	E
Indramayu	A1	18.70 (I)	9.50 (R)	25.80 (S)	0.00 (R)	-	-	13.00 (R)	0.00 (R)
	A2	19.67 (I)	3.57 (R)	28.43 (S)	0.00 (R)	0.00 (R)	25.63 (S)	-	-
	B2	17.97 (R)	6.43 (R)	28.43 (S)	0.00 (R)	-	-	13.63 (R)	3.20 (R)
Resistensi/ Resistance		1/36	1/12	0/36	3/36	1/36	0/36	2/36	2/36
	(%)	2.8	8.3	0.0	8.3	2.8	0.0	5.6	5.6
Karawang	T2	29.90 (S)	0.00 (R)	25.87 (S)	23.77 (I)	-	-	13.13 (R)	20.37 (I)
	T3	21.10 (I)	9.33 (R)	26.17 (S)	2.53 (R)	-	-	15.30 (R)	6.43 (R)
	T5	18.40 (I)	12.53 (R)	25.00 (S)	19.63 (I)	-	-	14.30 (R)	6.10 (R)
Resistensi/ Resistance		0/36	3/36	0/36	1/36			3/36	2/36
	(%)	0.0	8.3	0.0	2.8	-	-	8.3	5.6
Brebes	PS 1	20.33 (I)	20.77 (I)	28.80 (S)	27.27(S)	2.77 (R)	22.60 (I)	-	-
	PS 4	22.67 (I)	21.03 (I)	26.73 (S)	13.27 (R)	0.00 (R)	29.37 (S)	-	-
	RK 1	28.70 (S)	27.17 (S)	20.80 (I)	0.00 (R)	29.37(S)	28.97 (S)	-	-
	RK 3	34.37 (S)	18.23 (I)	28.17(S)	22.97 (I)	20.00 (I)	29.40 (S)	-	-
Resistensi/ Resistance		0/36	0/36	0/36	2/36	2/36	0/36		
	(%)	0.0	0.0	0.0	5.6	5.6	0.0	-	-
Sidoarjo	SD 2	20.43 (I)	21.70 (I)	36.80 (S)	28.03 (S)	8.13 (R)	25.27 (S)	-	-
	PC 1	20.07 (I)	2.60 (R)	26.80 (S)	25.57 (S)	-	-	15.00 (R)	0.00 (R)
	PC2	S	17.97 (R)	S	I	-	-	9.50 (R)	9.50 (R)
Resistensi/ Resistance		0/36	2/36	0/36	0/36	1/36	0/36	2/36	2/36
	(%)	0.0	5.6	0.0	0.0	2.8	0.0	5.6	5.6
Lamongan	BR 2	28.33 (S)	2.60 (R)	29.57 (S)	23.10 (I)	-	-	13.33 (R)	14.00 (R)
	LM 1	20.73 (I)	2.30 (R)	27.73 (S)	25.87 (S)	-	-	13.37 (R)	6.73 (R)
	LM 7	18.07 (I)	0.00 (R)	26.43 (S)	0.00 (R)	-	20.33 (I)	15.43 (R)	-
	LM 8	19.20 (I)	2.60 (R)	28.47 (S)	23.30 (I)	-	-	14.40 (R)	6.90 (R)
Resistensi/ Resistance		0/36	4/36	0/36	1/36			4/36	3/36
	(%)	0.0	11.1	0.0	2.8	-	-	11.1	8.3
Tuban	TBA 1	26.73 (S)	3.03 (R)	23.40 (I)	0.00 (R)	-	-	13.07 (R)	12.37 (R)
	TBB 2	18.57 (I)	20.00 (I)	24.57 (I)	25.30 (S)	-	-	13.70 (R)	9.20 (R)
	TBC 1	29.07 (S)	26.27 (S)	22.57 (I)	4.33 (R)	-	-	8.80 (R)	23.87 (I)
	TBC4	20.07 (I)	20.67 (I)	35.93 (S)	26.30 (S)	-	-	14.63 (R)	6.20 (R)
Resistensi/ Resistance		0/36	1/36	0/36	2/36			4/36	3/36
	(%)	0.0	2.8	0.0	5.6	-	-	11.1	8.3
Resistensi total/Total resistance	(%)	2.8	36.1	0.0	25.0	11.1	0.0	41.7	33.3

## Keterangan/Note:

DO = Doksisisiklin/*Doxycycline*CIP = Ciprofloxacin/*Ciprofloxacin*AMC = Amoksilin-asam klavulanat/*Amoxicillin-clavulanic acid*S = Streptomisin/*Streptomycin*I = Intermediet (diameter zona inhibisi 18-25 mm)/*Intermediate (diameter of inhibition zone 18-25 mm)*R = Resistensi (diameter zona inhibisi « 18 mm)/*Resistance (diameter of inhibition zone « 18 mm)*S = Sensitif (diameter zona inhibisi » 25 mm)/*Susceptible (diameter of inhibition zone » 25 mm)*

(Clinical and Laboratory Standard Institute, 2014)



musim hujan. Pada musim hujan bakteri resisten terhadap nitrofurantoin (36,1%), streptomisin (41,7%), eritromisin (33,3%) dan asam nalidiksat (25%). Sementara pada musim kemarau bakteri juga resisten terhadap antibiotik yang sama namun dengan persentase yang lebih rendah, yaitu terhadap nitrofurantoin (22,2%), streptomisin (16,7%), eritromisin (13,9%) dan asam nalidiksat (16,7%). Hal

ini diduga karena koloni bakteri dari sampel musim hujan dapat tumbuh subur jika dibandingkan dengan bakteri dari musim kemarau yang memungkinkan peluang keberadaannya menjadi lebih besar, sehingga kemungkinan memunculkan resistensi menjadi lebih besar. Devi, Surendran, dan Chakraborty, (2009) menyatakan bahwa resistensi yang lebih tinggi pada kultur yang diisolasi dari sedimen (musim pra-

Tabel 5. Profil resistensi antibiotik isolat *V. parahaemolyticus* dari udang tambak pada musim kemarau  
 Table 5. Antibiotics resistance profile of *V. parahaemolyticus* isolated from shrimp pond at dry season

Lokasi/ Location	Kode sampel/ sampling code	Zona hambat/ Zone of inhibition (mm)							
		DO	F	CIP	NA	AMC	C	S	E
Indramayu	IDR1	19.67 (I)	8.50 (R)	26.47 (S)	0.00 (R)	Na	Na	12.73 (R)	2.30 (R)
	IDR4	20.57 (I)	10.53 (R)	25.67 (S)	0.00 (R)	Na	Na	11.50 (R)	5.0 (R)
	IDR5	17.57 (R)	9.37 (R)	25.30 (S)	0.00 (R)	Na	Na	14.57 (R)	3.10 (R)
Resistensi/ Resistance	%	1/36 2.8	3/36 8.3	0/36 0,0	3/36 8.3	Na	Na	3/36 8.3	3/36 8.3
Karawang	KR 1	17.40 (R)	0.00 (R)	27.77 (S)	22.53 (I)	Na	21.20 (I)		
	KR 3	18.97 (I)	12.17 (R)	28.00 (S)	24.47 (I)	Na		13.23 (R)	6.20 (R)
	KR 9	21.37 (I)	20.73 (I)	29.47 (S)	28.20 (S)	5.70 (R)	28.50 (S)		
Resistensi/ Resistance	%	1/36 2.8	2/36 5.6	0/36 0.0	0/36 0.0	1/36 2.8	0/36 0.0	1/36 2.8	1/36 2.8
Brebes	RSK 1	21.67 (I)	0.00 (R)	25.53 (S)	0.00 (R)	0.00 (R)	28.20 (S)	Na	Na
	KLWL 2	23.1 (I)	22.17 (I)	26.47 (S)	26.47 (I)	0.00 (R)	28.10 (S)	Na	Na
	LW 1	35.13 (S)	32.67 (S)	37.03 (S)	37.03 (S)	16.97 (R)	41.83 (S)	Na	Na
Resistensi/ Resistance	%	0/36 0.0	1/36 2.8	0/36 0.0	1/36 2.8	3/36 8.3	0/36 0,0	-	-
Sidoarjo	BRB 2	26.00 (S)	29.10 (S)	37.00 (S)	36.8	7.23 (R)	34.40 (S)	Na	Na
	BRB 4	28.70 (S)	30.17 (S)	37.37 (S)	36.73		43.23 (S)	Na	Na
Resistensi/ Resistance	%	0/36 0.0	0/36 0.0	0/36 0.0	0/36 0.0	1/36 2.8	0/36 0,0	-	-
Tuban	TBJ 1	20.10 (I)	6.97 (R)	27.00 (S)	0.00 (R)	Na	Na	14.90 (R)	2.90 (R)
	TBG 1	19.43 (I)	6.33 (R)	25.30 (S)	0.00 (R)	Na	Na	14.20 (R)	5.23 (R)
	TBG 2	26.00 (S)	30.00 (S)	39.03 (S)	34.63 (S)		32.60 (S)	Na	Na
	TBG 3	31.47 (S)	28.30 (S)	38.17 (S)	36.10 (S)	16.23 (R)	38.73 (S)	Na	Na
Resistensi/ Resistance	%	0/36 0.0	2/36 5.6	0/36 0.0	2/36 5.6	1/36 2.8	0/36 0.0	2/36 5.6	2/36 5.6
Resistensi total/Total resistance	%	5.6	22.2	0.0	16.7	16.7	0.0	16.7	13.9

Keterangan/Note:

- DO = Doksisisiklin/Doxycycline
- CIP = Ciprofloxasin/Ciprofloxacin
- AMC = Amoksilin-asam klavulanat/Amoxicillin-clavulanic acid
- S = Streptomisin/Streptomycin
- I = Intermediet (diameter zona inhibisi 18-25 mm)/Intermediate (diameter of inhibition zone 18-25 mm)
- R = Resisten(diameter zona inhibisi « 18 mm)/Resistance (diameter of inhibition zone « 18 mm)
- S = Sensitif(diameter zona inhibisi » 25 mm)/Susceptible (diameter of inhibition zone » 25 mm)
- F = Nitrofurantoin/Nitrofurantoin
- NA = Asam nalidiksat/Nalidixic acid
- C = kloramfenikol/Chloramphenicol
- E = Eritromisin/Erythromycin

(Clinical and Laboratory Standard Institute, 2014)



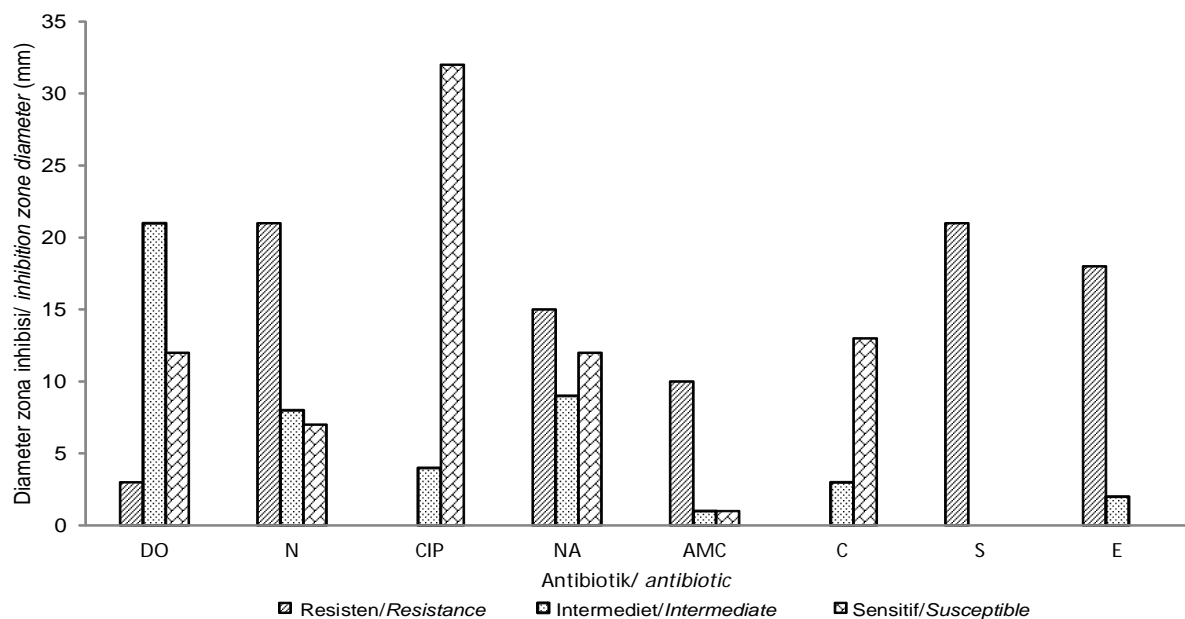
monsoon) diduga disebabkan oleh jumlahnya yang lebih melimpah. Sebaliknya strain dari sampel musim panas bersifat lebih sensitif terhadap kondisi lingkungan dan lebih cepat menjadi *non-culturable* sehingga menjadi sulit diisolasi (Raghunath, 2015).

Secara keseluruhan isolat bakteri yang diuji resisten terhadap 6 antibiotik (doksisisiklin, nitrofurantoin, asam nalidiksat, amoksisilin-asam klavulanat, streptomisin dan eritromisin) dari 8 antibiotik yang diperiksa (Gambar 1, Tabel 4 dan Tabel 5). Seluruh isolat *V. parahaemolyticus* dari semua lokasi resisten terhadap streptomisin, eritromisin dan amoksisilin-asam klavulanat, sebaliknya sebagian besar isolat bersifat sensitif terhadap siprofloksasin dan kloramfenikol (Tabel 4 dan 5). Resistensi yang rendah pada siprofloksasin dan kloramfenikol pada penelitian ini diduga karena penggunaan kedua antibiotik tersebut sangat jarang. Hasil ini serupa dengan Letchumanan et al. (2015) yang melaporkan 98% dari isolat *V. parahaemolyticus* sensitif terhadap imipenem, ampisillin sulbaktam (96%), kloramfenikol (95%), gentamisin (85%) dan tetrasiklin (82%). Sementara Rodrigues de Melo et al. (2011) melaporkan bahwa semua strain *V. parahaemolyticus* dari sampel udang tambak sensitif terhadap kloramfenikol, namun terhadap siprofloksasin bersifat resisten pada tingkat intermediet. Sebaliknya menurut Rocha et al. (2016) sebanyak 70 strain vibrio dari sampel air dan sedimen di lingkungan tambak udang bersifat resisten terhadap salah satu antibiotik seperti

siprofloksasin dan kloramfenikol. Beberapa strain bakteri yang bersifat resisten terhadap siprofloksasin merupakan permasalahan serius saat ini karena antibiotik ini merupakan pilihan antibiotik yang cukup baik untuk beberapa bakteri gram negatif (Chitanand, Kadam, Gyananath, Totewad, & Balhal, 2010).

Bakteri dapat menjadi resisten pada antibiotik ketika antibiotik tidak digunakan secara tepat atau ketika antibiotik yang digunakan tidak diberikan untuk jangka waktu yang benar atau dosis yang benar (Aprilliani, Sarjito, & Haditomo, 2016; Romich, 2010; Sánchez & Demain, 2015). Gen-gen resisten pada bakteri kemungkinan berasal dari strain penghasil antibiotik yang digunakan untuk melindungi diri dari produk yang membahayakan mereka sendiri atau dari mekanisme perlindungan alami. Resistensi dikode oleh beberapa gen sehingga gen tersebut berpotensi untuk ditransfer ke bakteri lainnya (Blair, Webber, Baylay, Ogbolu, & Piddock, 2015; Sánchez & Demain, 2015).

Dalam hal ini, resistensi melibatkan peranan enzim, seperti  $\beta$ -laktamase (Sánchez & Demain, 2015). Selain itu bakteri yang tidak resisten dapat menjadi resisten ketika memperoleh gen yang memiliki kode resisten. Beberapa gen ditransfer dari anggota spesies bakteri yang sama atau dari bakteri yang berbeda spesies melalui transfer plasmid (Romich, 2010). Gen resisten juga dapat disebarkan melalui bakteriofag, *naked DNA* atau transposons (Hall et al., 1999). Bakteri yang resisten dapat meninggalkan gen



Gambar 1. Pola resistensi *V. parahaemolyticus*  
 Figure 1. Pattern of resistance of *V. parahaemolyticus*

resistennya kemudian menempati bakteri lain (Chang, Wang, Regev-Yochay, Lipsitch, & Hanage, 2014). Forsberg et al. (2012) melaporkan bahwa gen resisten dapat disebarkan dari bakteri dalam tanah (termasuk pupuk) ke bakteri patogen di komunitas tertentu. Bakteri resisten yang dikonsumsi manusia dapat menyebabkan penyebaran gen resisten ke bakteri lain di saluran pencernaan manusia (Forsslund, Sunagawa, Coelho, & Bork, 2014). Bahkan ditemukan adanya pertumbuhan reservoir resistensi antibiotik di lingkungan manusia (Silbergeld, Graham, & Price, 2008).

Caroll et al. (2016) menyatakan beberapa mekanisme yang menyebabkan bakteri resisten terhadap obat-obatan, antara lain : 1) bakteri memproduksi enzim yang menghancurkan zat aktif yang terdapat dalam obat, 2) bakteri mengubah permeabilitasnya terhadap obat, 3) bakteri mengembangkan struktur target lain untuk obat, 4) bakteri mengembangkan jalur metabolisme yang melewati saat terjadi reaksi penghambatan oleh obat, dan 5) bakteri mengembangkan enzim lain yang tetap dapat menjalankan fungsi metabolisme namun kurang dipengaruhi oleh obat. Dalam hal ini bakteri yang resisten dapat tersebar melalui udara (Brooks, McLaughlin, Scheffler, & Miles, 2010; Gibbs et al., 2006; McEachran, 2015; Rule, Evans, & Silbergeld, 2008; Zhong, Chai, & Duan, 2009), air (Wilson, 2004) dan angin (Marti et al., 2014; Wichmann, Udikov-Kolic, Andrew, Handelsman, 2014). Bahkan serangga (Marti, 2013) dan tikus (Literak et al., 2009; van de Giessen et al., 2009) dapat membawa bakteri resisten dari lokasi pertanian.

**Pola Sensitivitas Bakteri terhadap Antibiotik**

Bakteri yang dianalisis pada penelitian ini masih sensitif terhadap siprofloksasin (88,89%) dan kloramfenikol (81,25%) (Tabel 6). Hasil ini serupa

dengan Letchumanan et al., (2015), yang melaporkan 95% dari isolat *V. parahaemolyticus* sangat sensitif terhadap kloramfenikol, gentamisin (85%) dan tetrasiklin (82%). Sementara Rodrigues de Melo et al. (2011) menyebutkan strain *V. parahaemolyticus* dari sampel udang tambak sensitif terhadap kloramfenikol, namun terhadap siprofloksasin bersifat resisten. Keberadaan strain resisten terhadap beberapa antibiotik ini mengindikasikan penggunaan antibiotik berlebihan di lingkungan budidaya perairan maupun pertanian (Letchumanan et al., 2015).

Siprofloksasin merupakan antibiotik golongan kuinolon yang digunakan untuk mengobati infeksi (Jawetz, Melvick, & Adelverg, 2005). Berdasarkan Tabel 6, bakteri ini menunjukkan resistensi yang sangat tinggi terhadap streptomisin (100%), eritromisin (90%), dan amoksisilin (83,33%) serta cukup tinggi terhadap nitrofurantoin (58,33%). Beberapa bakteri seperti Enterobacteriaceae, *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp dan *Pseudomonas aeruginosa* hampir resisten secara universal terhadap senyawa tersebut. Amoksisilin-asam klavulanat merupakan antibiotik yang memadukan amoksisilin dengan β-laktamase inhibitor klavulanat. Amoksisilin memiliki spektrum yang mirip dengan ampisilin namun kerja antibiotik ini lebih aktif jika dibanding dengan ampisilin. Penambahan asam klavulanat ke amoksisilin memperluas atau memulihkan spektrum amoksisilin (Ganda, 2013; Haveles, 2016; Starlin & Richard, 2005).

**Nilai indeks MAR (Multiple Antibiotic Resistance)**

Nilai indeks *Multiple Antibiotic Resistance* (MAR) diketahui dari rasio antara jumlah antibiotik yang memiliki status resisten dan jumlah total antibiotik yang digunakan (Yu et al., 2015).

Keberadaan MAR di antara spesies bakteri dapat menjadi masalah yang berhubungan dengan transfer atau resistensi antibiotik ke organisme lain secara

Tabel 6. Persentase resistensi pada setiap antibiotik  
Table 6. Percentage of antibiotic resistance

	Persentase resistensi antibiotik/Percentage of antibiotic resistance(%)							
	DO	F	CIP	NA	AMC	C	S	E
Resisten/resistance	0.83	58.33	0.00	41.60	83.33	0.00	100.00	90.00
Intermediet/intermediate	58.33	22.22	11.11	25.00	8.33	18.75	0.00	10.00
Sensitif/susceptible	33.33	19.44	88.89	33.33	8.33	81.25	0.00	0.00

Keterangan/Note:

DO = Doksisisiklin/Doxycycline

CIP = Ciprofloksasin/Ciproflozacin

AMC = Amoksisilin-asam klavulanat/Amoxiliin-clavulanic acid

S = Streptomisin/Streptomycin

F = Nitrofurantoin/Nitrofurantoin

NA = Asam nalidiksat/Nalidixic acid

C = kloramfenikol/Chloramphenicol

E = Eritromisin/Erythromycin

Tabel 7. Indeks MAR pada setiap isolat bakteri

Table 7. MAR index of bacteria isolates

No	Lokasi/ location	Kode/ Code	Indeks MAR/ MAR index	Kode/ Code	Indeks MAR/ MAR index
1	Indramayu	A 1	0.67	IDR 1	0.67
		A 2	0.5	IDR 4	0.67
		B 2	0.83	IDR 5	0.83
2	Karawang	T 2	0.33	KR 1	0.33
		T 3	0.67	KR 3	0.5
		T 5	0.5	KR 9	0.17
3	Brebes	PS 1	0.17	RSK 1	0.5
		PS 4	0.33	KLWL 2	0.17
		RK 1	0.17	LW 1	0.17
		RK 3	0.00		
4	Sidoarjo	SD 2	0.17	BRB 2	0.17
		PC 1	0.17	BRB 4	0.00
		PC2	0.15		
5	Lamongan	BR 2	0.5		
		LM1	0.5	*)	*)
		LM7	0.5		
		LM8	0.5		
6	Tuban	TBA 1	0.67	TBJ 1	0.67
		TBB 2	0.33	TBG 1	0.67
		TBC 1	0.33	TBG 2	0.00
		TBC 4	0.33	TBG 3	0.17

Keterangan/Note: \*) data tidak diperoleh/the data were not found

signifikan, misalnya hewan dan manusia. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa *V. parahaemolyticus* masih sensitif terhadap siprofloksasin, kloramfenikol dan doksisisiklin, namun cenderung resisten terhadap streptomisin, eritromisin, amoksisilin-asam klavulanat dan nitrofurantoin. Hasil ini berbeda dengan hasil penelitian Devi et al. (2009) dan Yu et al. (2015).

Sebanyak 63,89% dari total isolat yang diuji memiliki nilai indeks MAR lebih dari 0,2. Chitanand et al. (2010) melaporkan bahwa indeks MAR kisaran rendah (0,15) di wilayah *upstream* mengindikasikan adanya risiko kontaminasi rendah. Sementara indeks yang moderat berada di wilayah *midstream*, dan indeks MAR yang lebih tinggi di wilayah *down stream*. Sampel *up stream* dengan indeks MAR di bawah 0,2 mengindikasikan wilayah dengan risiko kontaminasi rendah, sedangkan sampel *downstream* dengan indeks MAR di atas 0,25 mengindikasikan wilayah dengan risiko kontaminasi tinggi. Letchumanan et al. (2015) menyatakan bahwa nilai indeks MAR yang melebihi 0,2 dapat menjadi tanda kontaminasi dari sumber-sumber yang berisiko tinggi, dengan demikian

mengindikasikan adanya potensi risiko kesehatan manusia. Nilai indeks MAR pada penelitian ini berkisar dari 0,00 sampai 0,83, dengan nilai indeks MAR tertinggi berasal dari Indramayu pada kedua musim pengambilan, masing-masing B2 dan IDR5 dan diikuti daerah lain. Sidoarjo menjadi satu-satunya kota yang memiliki indeks MAR yang sesuai standar, yaitu dibawah 0,2. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa penggunaan antibiotik yang tidak terkontrol pada budidaya udang berkontribusi terhadap berkembangnya strain vibrio yang resisten sebagaimana dilaporkan Rocha et al. (2016). Oleh karena itu diperlukan sosialisasi dan pengawasan yang intensif kepada masyarakat pembudidaya udang oleh instansi terkait dalam hal penggunaan antibiotik secara tepat guna dan terkontrol. Beberapa laporan menyebutkan pencegahan penyakit yang menggunakan antibiotik dapat meningkatkan MAR. O'Neill (2015) merekomendasikan beberapa upaya untuk mengurangi penggunaan antibiotik yang tidak diperlukan diantaranya dengan melakukan kampanye kesadaran masyarakat, mengurangi penggunaan

antimikroba yang tidak perlu di bidang pertanian, surveilen global terhadap resistensi obat, serta pengembangan dan penggunaan vaksin.

## KESIMPULAN

Seluruh isolat bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang diuji resisten terhadap streptomisin (100%), diikuti eritromisin (90%), amoksisilin-asam klavulanat (83,33%), nitrofurantoin (58,33%) dan asam nalidiksik (41,60%). Sementara antibiotik yang masih mampu melawan bakteri *V. parahaemolyticus* adalah siprofloksasin (88,89%) dan kloramfenikol (81,25%). Pola resistensi bakteri *V. parahaemolyticus* terhadap beberapa antibiotik tersebut memperlihatkan adanya perbedaan antara musim hujan dan musim kemarau. Sebanyak 63,89% isolat memiliki indeks MAR > 0,2 dengan indeks tertinggi terjadi di Indramayu dan berpotensi menimbulkan risiko bagi kesehatan manusia. Secara keseluruhan, bakteri *V. parahaemolyticus* pada musim hujan dinilai lebih resisten terhadap antibiotik yang diuji.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan pada Dyah Ayu Hediati yang membantu dalam preparasi sampel, isolat dan pengujian antibiotik. Selain itu ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Musvita Anggi di BBRP2BKP yang membantu dalam preparasi isolat dan pengujian antibiotik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abu, G., & Egenonu, C. (2008). The current status of the new Calabar river in the Niger Delta region of Southern Nigeria : a survey of antibiogram profiles of its bacterial isolates. *African J. Environmental Science and Technol*, 2 (6), 134-141.
- Abuaita, B. H., & Withey, J.H. (2009). Bicarbonate induces *Vibrio cholerae* virulence gene expression by enhancing ToxT activity. *Infect Immun*, 77(9):4111–4120.
- Aprilliani, M., Sarjito, M. A., & Haditomo, A. H. (2016). Keanekaragaman Agensia Penyebab Vibriosis pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) dan Sensitivitasnya terhadap Antibiotik. *Journal of Aquaculture Management*, 5 (1): 98-107.
- Badan Standarisasi Nasional. (2006). SNI 01-2332.5-2006. Cara uji mikrobiologi Bagian 5. Penentuan *V. parahaemolyticus* pada produk perikanan.
- Blair, J. M. A., Webber, M.A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. V. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 13: 42–51.
- Brooks, J. P., McLaughlin, M. R., Scheffler, B., & Miles, D.M.(2010). Microbial and antibiotic-resistant constituents associated with biological aerosols and poultry litter within a commercial poultry house. *Science of the Total Environment*, 408, 4770-4777.
- Caburlo, G., Suffredini, E., Toson, M., Fasolato, L., Antonetti, P., Zambon, M., & Manfrin, A. (2016). Occurrence and molecular characterisation of *V. parahaemolyticus* in crustaceans commercialised in Venice area, Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 39–49.
- Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., Mietzner, T., Detrick, B., Mitchell, T. G., McKerron, J. H., & Sakanari, J. A. (2016). *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*, 27th Edition. McGraw-Hill, New York, Amerika Serikat.
- Ceccarelli, D., Hasan, N. A., Hug, A., & Colwell, R. R. (2013). Distribution, and dynamics of epidemic, and pandemic *V. parahaemolyticus* virulence factors. *Front. Cell. Infect. Microbiol*, 3,97. doi:10.3389/fcimb.2013. 00097.
- Chang, Q., Wang, W., Regev-Yochay, G., Lipsitch, M., & Hanage, W.P. (2014). Antibiotics in agriculture and the risk to human health: how worried should we be? *Evolutionary Applications*, 1-8. Doi : 10.1111/eva.12185.
- Chitanand, M. P., Kadam, T. A., Gyananath, G., Totewad, N. D., & Balhal, D. K. (2010). Short communication. Multiple antibiotic resistance indexing of coliforms to identify high risk contamination sites in aquatic environment. *Indian J Microbiol*, 50, 216–220. doi : 10.1007/s12088-010-0042-9.
- Chitov, T., Wongdao, S., Thatum, W., Puprae, T., & Sisuwan, P. (2009). Occurrence of potentially pathogenic *Vibrio* species in raw, processed, and ready-to-eat seafood and seafood products. *Maejo Int. J. Sci. Technol*, 3(01), 88-98.
- Clinical and Laboratory Standard Institute. (2014). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Fourth Informational Supplement*. Pennsylvania, Amerika Serikat. 230 p.
- DePaola, A., Kaysner, C. A., Bowers, J. C., & Cook, D. W. (2000). Environmental investigations of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters following outbreaks 83 in Washington, Texas, and New York (1997 and 1998). *Appl. Environ. Microbiol*, 66, 4649–4654.
- Devi, R., Surendran, P. K., & Chakraborty, K. (2009). Antibiotic Resistance and Plasmid Profiling of *V. parahaemolyticus* isolated from Shrimp Farms Along the Southwest Coast of India. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 2005-2012.
- European Federation of Animal Health. (1998). Survey of antimicrobial usage in animal health in the European Union and Switzerland.
- European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR). (2009). Joint Opinion on Antimicrobial Resistance focused on zoonotic infections. *EFSA Journal*, 7(11), 1372. doi:10.2903/j.efsa.2009.1372. <http://bit.ly/1LZ0JLJ>. Diakses tanggal 26 juli 2017.
- Fendjalang, Budiardi, S. N. M., Supriyono, T., & Eddy. (2016). Kinerja produksi dan fisiologis udang vaname *Litopenaeus vannamei* pada karamba jaring apung dengan padat tebar berbeda di selat Kepulauan

- Seribu. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/81580>.
- Ford, T. E. (2000). Response of marine microbial communities to anthropogenic stress. *J Aquat Ecosyst Stress Recover*, 7,75–89.
- Forsberg, K., Reyes, A., Wang, B., Selleck, E. M., Sommer, M. A. A., & Dantas, G. (2012). The shared antibiotic resistome of soil bacteria and human pathogens. *Science*, 337, 1107-1111.
- Forslund, K., Sunagawa, S., Coelho, L.P., & Bork, P. (2014). Metagenomic insights into the human gut resistome and the forces that shape it. *Bioessays*, 36, 316-329. Doi : 10.1002/bies.201300143.
- Fujino, T., Okuno, Y., Nakada, D., Aoyama, A., Fukai, K., Mukai, T., & Ueho, T. (1953). On the bacteriological examination of shirasu food poisoning. *Med J Osaka Univ*, 4, 299–304.
- Ganda, K. 2013. *Dentist's Guide to Medical Conditions, Medications and Complications*. Wiley Blackwell, Hoboken, Amerika Serikat.
- Gibbs, S. G., Green, C. F., Tarwater, P. M., Mota, L. C., Mena, K. D., & Scarpino, P. V. (2006). Isolation of antibiotic-resistant bacteria from the air plume down wind of a swine confined or concentrated animal feeding operation. *Environmental Health Perspectives*, 114, 1032–1037.
- Hackney, C. R., & Dicharry, A. (1988). Seafood-borne bacterial pathogens of marine origin. *Food Technology*, 42, 104–109.
- Hall, R. M., Collis, C. M., Kim, M. J., Partridge, S. R., Recchia, G. D., & Stokes, H. W. (1999). Mobile gene cassettes and integrons in evolution. *Ann. NY Acad. Sci.*, 870, 68–80.
- Havales, E. B. (2016). *Pharmacology for the Dental Hygienist, 7th Edition*. Elsevier, Canada.
- Jawetz, E., Melvick, J. L., & Adelverg, E. (2005). *Mikrobiologi Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Kang, C. H. Y., Kim, S. J., Oh, J. S., Mok, M. H., & Cho, J. S. (2014). Antibiotic resistance of *Vibrio harveyi* isolated from seawater in Korea. *Mar. Pollut. Bull*, 86, 261-265.
- Katadata KKP. (2016). *Indonesia raja udang ASEAN*. <http://www.m.katadata.co.id/infografik/2016/03/30/indonesiaraja> (Diakses tanggal 19 Juli 2016).
- Khouadja, S., Suffredini, E., Spagnoletti, M., Croci, L., Colombo, M. M., & Amina, B. (2013). Presence of pathogenic *V. parahaemolyticus* in waters and seafood from the Tunisian Sea. *World J Microbiol Biotechnol*, 29,1341–1348.
- Kim, Y. B., Okuda, J., Matsumoto, C., Takahashi, N., Hashimoto, S., & Nishibuchi, M. (1999). Identification of *V. parahaemolyticus* strains at the species level by PCR targeted to the *toxR* gene. *Journal of Clinical Microbiol.* 37, 1173-1177.
- Kusmarwati, A., Hermana, I., Yennie, Y., & Wibowo, S. (2016). Keberadaan *Vibrio parahaemolyticus* patogenik pada udang tambak yang berasal dari Pantai Utara Jawa. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 11(1), 41-54.
- Lake, R., Hudson, A., & Cressey, P. (2003). *Risk profile: V. parahaemolyticus in seafood*. Institute of Environmental Science and Research Ltd, Christchurch, New Zealand. 47 p.
- Letchumanan, V., Pusparajah, P., Tan, L. T. H., Yin, W. F., Lee, H. L., & Chan, K. G. (2015). Occurrence and Antibiotic Resistance of *V. parahaemolyticus* from Shellfish in Selangor, Malaysia. *Frontiers in Microbiology*, 6 (1417), 1-11.
- Literak, I., Dolejska, M., Rybarikova, J., Cizek, A., Strejckova, P., & Vysocilova, M. (2009). Highly variable patterns of antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* isolates from pigs, sympatric rodents, and flies. *Microbial Drug Resistance*, 15, 229-237. Doi: 10.1089/mdr.2009.0913.
- López-Hernández, K. M., Pardío-Sedas, V. T., Lizárraga-Partida, L., de J. Williams, J., Martínez-Herrera, D., Flores-Primo, A., Uscanga-Serrano, R., Karla & Rendón-Castro, K. (2015). Environmental parameters influence on the dynamics of total and pathogenic *V. parahaemolyticus* densities in *Crassostrea virginica* harvested from Mexico's Gulf coast. *Marine Pollution Bulletin*, 91, 317-329.
- Marti, R. (2013). Impact of manure fertilization on the abundance of antibiotic-resistant bacteria and frequency of detection of antibiotic resistance genes in soil and on vegetables at harvest. *Applied Environmental Microbiology*, 18, 5701–5719.
- Marti, R., Tien, Y. C., Murray, R., Scott, A., Sabourin, L., & Topp, E. (2014). Safely coupling livestock and crop production systems: how rapidly do antibiotic resistance genes dissipate in soil following a commercial application of swine or dairy manure? *Applied and Environmental Microbiology*, 10, 3258–3265.
- Matsumoto, C., Okuda, J., Ishibashi, M., Iwanaga, M., Garg, P., Ramamurthy, T., Wong, H.C., De Paola, A., Kim, Y. B., Albert, M.J., & Nishibuchi, M. (2000). Pandemic spread of a O3:K6 clone of *V. parahaemolyticus* and emergence of related strains evidenced by arbitrarily primed PCR and *toxRS* sequence analyses. *J Clin Microbiol*, 38, 578–585.
- McEachran, A. (2015). Antibiotics, bacteria, and antibiotic resistance genes: Aerial transport from cattle feed yards via particulate matter. *Environmental Health Perspectives*, -
- Mekalanos, J.J. (1992) Environmental signals controlling expression of virulence determinants in bacteria. *J Bacteriol*, 174:1–7.
- Miyamoto, Y., Kato, T., Obara, Y., Akiyama, S., Takizawa, K. & Yamai, S. (1969). *In vitro* hemolytic characteristic of *V. parahaemolyticus*: its close correlation with human pathogenicity. *Journal of Bacteriology*, 100, 1147–1149.
- Newton, A., Kendall, M., Vugia, D. J., Henao, O. L., & Mahon, B.E. (2012). Increasing rates of vibriosis in the United States, 1996–2010: review of surveillance data from 2 systems. *Clin. Infect. Dis*, 54, S391– S395. doi:10.1093/cid/cis243.
- Nishibuchi, M. & Kaper J. B. (1995). Thermostable direct hemolysin gene of *V. parahaemolyticus*: a virulence

- gene acquired by a marine bacterium. *Infect Immun*, 63, 2093–2099.
- O'Neill, J (2015). Tracking drug-resistant infections globally. Final report and recommendations the review on antibacterial resistance chaired.
- Pace, J. & Chai, T. (1989). Comparison of *Vibrio parahaemolyticus* grown in estuarine water and rich medium. *Appl. Environ. Microbio*, 55, 1877–1887.
- Quiroz-Guzman, E., Balcazar, J. L., Azquez-Juarez, R. V., Cruz-Villacorta, A. A., & Martínez-Díaz, S. F. (2013). Proliferation, colonization, and detrimental effects of *V. parahaemolyticus* and *Vibrio harveyi* during brine shrimp hatching. *Aquaculture*, 406-407, 85-90.
- Raghunath, P. (2015). Roles of thermostable direct hemolysin (TDH) and TDH-related hemolysin (TRH) in *V. parahaemolyticus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5 (805) : -
- Reboucas, R. H., Sousa, O.V., Lima, A.S., Vasconcelos, F. R., de Carvalho, P. B., & Vieira, R. H. S. D. (2011). Antimicrobial resistance profile of *Vibrio* species isolated from marine shrimp farming environments (*Litopenaeus vannamei*) at Cear\_a, Braz. *Environ. Res*, 111, 21-24.
- Rocha Rdos S., Sousa O. V., & Vieira, R. H.(2016). Multidrug-resistant *Vibrio* associated with an estuary affected by shrimp farming in Northeastern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 105 (1), 337-340.<http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.02.001>
- Rodrigues de Melo, L. M., Almeida, D., Hofer, E., Falavina dos Reis, C. M., Theophilo, G. N. D., Santos, A. F. D. M., Vieira, R. H. S. D. F. (2011). Antibiotic resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from pond-reared *Litopenaeus vannamei* marketed in Natal, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 1463-1469.
- Romich, J. A. (2010). *Fundamentals of Pharmacology for Veterinary Technicians*, 2nd Ed. Delmar Cengage Learning, New York, Amerika Serikat.
- Ronald, G. L., & Santos, G. (2001). *Guide to foodborne pathogens*. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Rule, A., Evans, S., & Silbergeld, E. (2008). Food animal transport: A potential source of community exposures to health hazards from industrial farming (CAFOs), *Journal of Infection and Public Health*, 1, 33–39.
- Sánchez, S., & Demain, A. L. (2015). *Antibiotics : Current Innovations and Future Trends*. Caister Academic Press, Norfolk, Inggris.
- Silbergeld, E. K., Graham, J., & Price, L. B. (2008). Industrial food animal production, antimicrobial resistance, and human health. *Annual Review of Public Health*, 29, 151–169. Doi: 10.1146/annurev.pubhealth.29.020907.090904.
- Shirai, H., Ito, H., Hirayama, T., Nakamoto, Y., Nakabayashi, N., Kumagai, K., Takeda, Y., & Nishibuchi, M. (1990). Molecular epidemiologic evidence for association of thermostable direct haemolysin (TDH) and TDH-related haemolysin of *V. parahaemolyticus* with gastroenteritis. *Infection and Immunity*, 58(11), 3568–3573.
- Smith, R. D., & Coast, J. (2012). The economic burden of antimicrobial resistance: why it is more serious than current studies suggest. Technical report. London: London School of Hygiene & Tropical Medicine. <http://bit.ly/1MtBj80>.
- Stalin, N., & Srinivasan, P. (2016). Molecular characterization of antibiotic resistant *Vibrio harveyi* isolated from shrimp aquaculture environment in the south east coast of India. *Microbial Pathogenesis Journal*, 97, 110-118.
- Starlin, & Richard. (2005). *The Washington Manual : Infectious Diseases Subspecialty Consult*. Lippincott Williams & Wilkins, Washington, Amerika Serikat.
- Sung, H., Chang, C., & Lan, S. (2004) Effects of salinity and pH on the adherence and virulence of *Vibrio cholerae* O139. *J Food Drug Anal*, 12(1),68–73.
- Sunorita, M., & Tjarsono, I. (2014). Kebijakan Hambatan Non Tarif Di Pasar Uni Eropa Terhadap Ekspor Komoditas Udang Indonesia. *Jurnal Transnasional*, 6 (1): -
- Su, Y. C., & Liu C. (2007). *V. parahaemolyticus*: a concern of seafood safety. *Food Microbiol*, 24, 549–558.
- Tada, J., Ohashi, T., Nishimura, N., Shirasaki, Y., Ozaki, H., Fukushima, S., Takano, J., Nishibuchi, M., & Takeda, Y. (1992). Detection of thermostable direct hemolysin gene (*tdh*) and thermostable direct-related hemolysin gene (*trh*) of *V. parahaemolyticus* by polymerase chain reaction. *Molecular and Cellular Probes*, 64, 477-487.
- Tiruvayipati, S., Bhassu., Kumar, N., Baddam, R., Shaik, S., Gurindapalli, A. K., Lin Thong, K., & Niyaz Ahmed, N. (2013). Genome anatomy of the gastrointestinal pathogen, *V. parahaemolyticus* of crustacean origin. *Gut Pathogens*, 5,37.
- US Food and Drug Administration (USFDA). (2015). BAM Appendix 2 : Most Probable Number from serial dilution. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm109656.htm>. (Diakses tanggal 10 Oktober 2016).
- van de Giessen, A. W., Van Santen-Verheuevel, M. G., Hengeveld, P. D., Bosch T., Broens EM., & Reusken C. B. (2009). Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in rats living on pig farms, *Preventative Veterinary Medicine*, 91, 270–273.
- Wang, L., Chen, Y., Huang, H., Huang, Z., Chen, H., & Shao, Z. (2015). Isolation and identification of *Vibrio campbellii* as a bacterial pathogen for luminous vibriosis of *Litopenaeus vannamei*. *Aquac. Res*, 46, 395-404.
- Wilson, I. G. (2004). Airborne *Campylobacter* infection in apoultry worker: case report and review of the literature, *Communicable Disease and Public Health*, 7, 349–353.
- Wichmann, F., Udikovic-Kolic, N., Andrew, S., & Handelsman, J. (2014). Diverse antibiotic resistance genes in dairy cow manure, *MBio*, 5 (2), 01017-13. Doi: 10.1128/mBio.01017-13.
- Whitaker, W. B., Parent, M. A., & Naughton, L. M. (2010). Modulation of responses of *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 to pH and temperature stresses by growth at different salt concentrations. *Appl Environ Microbiol*, 76,4720–4729.

- Wong, H. C., Chen, M. C., Liu, S. H., & Liu, D. P. (1999). Incidence of highly genetically diversified *Vibrio parahaemolyticus* in seafood imported from Asian countries. *Int. J. Food Microbiol*, 52, 181–188.
- World Health Organization (WHO). (2001). Global Strategy for containment of Antimicrobial Resistance. WHO/CDS/DRS/2001.2. <http://bit.ly/1CwedEh>. Diakses tgl 26 Juli 2017.
- World Health Organization (WHO). (2014). *Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance* 2014. <http://bit.ly/1rOb3cx>. Diakses tgl 26 Juli 2017.
- Yano, Y., Hamano, K., Satomi, M., Tsutsui, I., Ban, M., & Aue-umneoy, D. (2014). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Vibrio* species related to food safety isolated from shrimp cultured at inland ponds in Thailand. *Food Control*, 38, 30-36.
- Yennie, Y., Hariyadi, R., D., & Poernomo, A. (2015). Prevalensi gen *tdh* dan *trh* *Vibrio parahaemolyticus* pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di wilayah Indramayu, Jawa Barat. *JPB Kelautan dan Perikanan*, 10 (1), 61–70.
- Yu, Q., Niu, M., Yu, M., Liu, Y., Wang, D., & Shi, X. (2015). Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of *V. parahaemolyticus* Isolated from Retail Shellfish in Shanghai. *Food Control*, 60: 263-268.
- Zafran, D., Roza, & Koesharyani. (1997). Resistensi Isolat dari Beberapa Panti Benih Udang Windu (*Peneaus monodon*) terhadap Antibiotik. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia* 3(1): 11-15.
- Zhang, X. H., & Austin, B. (2005). Haemolysins in *Vibrio* species. *J. Appl. Microbiol.* 98, 1011–1019. doi:10.1111/j.1365-2672.2005.02583.x
- Zhong, Z., Chai, T., & Duan, H. (2009). REP-PCR tracking of the origin and spread of airborne *Staphylococcus aureus* in and around chicken house. *Indoor Air*, 19, 511-516.
- Zulkifli, Y., Alitheen, N. B., Son, R., Yeap, S. K., Lesley, M. B., & Raha, A. R. (2009). Identification of *V. parahaemolyticus* isolates by PCR targeted to the *toxR* gene and detection of virulence genes. *International Food Research Journal*, 16, 289-296.



