

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI *Vibrio parahaemolyticus* PADA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) PENYEBAB PENYAKIT VIBRIOSIS
ISOLATION AND IDENTIFICATION OF *Vibrio parahaemolyticus* IN VANAME SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*) CAUSES OF VIBRIOSIS DISEASE
Toibullah Siregar^{1*}, Bambang Hendra S², Emmy Syafitri³
^{1,2,3} Program Studi Akuakultur, Fakultas Perikanan, Universitas Dharmawangsa

ABSTRAK : Penelitian ini bertujuan sebagai informasi yang berkaitan dengan isolasi identifikasi *Vibrio parahaemolyticus* yang dilakukan sebagai langkah dalam menjamin keamanan pangan hasil perikanan sehingga aman untuk di konsumsi. Penelitian ini dilakukan dengan metode ISO/TS 21872-1:2007 langkah yang dilakukan yaitu *pre enrichment* dengan menggunakan sampel sebanyak 25 gram yang dilarutkan dengan menggunakan *alkaline saline peptone water* 225ml, lalu diinkubasi selama 6 jam dengan suhu 41,5 °C sedangkan untuk sampel segar memerlukan waktu ±1 jam, selanjutnya enrichment dengan suhu 41,5 °C selama 18 jam ± 1 jam, selanjutnya dilakukan isolasi serta identifikasi dengan menggunakan media *Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose* (TCBS), lalu dilakukan inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam ± 3 jam, setelah itu dilakukan pengamatan dengan ciri-ciri koloni pada *V. parahaemolyticus* lembut warna hijau (sukrosa negatif) dengan diameter 2-3 mm, dan dilakukan uji biokimia dengan melakukan inokulasi pada koloni dengan menggunakan media saline nutrient agar, lalu dilakukan pemeriksaan uji biokimia. Hasil penelitian dari pemeriksaan sampel yang dilakukan di laboratorium Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Medan II (SKIPM) dapat disimpulkan bahwa dari 7 sampel yang di uji tidak ada yang menunjukkan hasil positif bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dari sampel laut, untuk media dan reagen uji yang digunakan benar dan sesuai dengan pengujian pada kontrol positif bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Kata kunci: Isolasi; Identifikasi; *Vibrio parahaemolyticus*; Udang Vaname; Penyakit Vibriosis

ABSTRACT : This study aims to provide information relating to the isolation of identification of *Vibrio parahaemolyticus* which is carried out as a step in ensuring the safety of fishery products so that they are safe for consumption. This research was conducted using the ISO/TS 21872-1:2007 method. The steps were pre-enrichment using a sample of 25 grams dissolved in 225ml alkaline saline peptone water, then incubated for 6 hours at a temperature of 41.5 0C while for fresh samples takes ±1 hour, then enrichment with a temperature of 41.5 0C for 18 hours ± 1 hour, then isolated and identified using *Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose* (TCBS) media, then incubated at 37 0C for 24 hours ± 3 hours hours, after that observations were made with the characteristics of the colonies on soft green *V. parahaemolyticus* (sucrose negative) with a diameter of 2-3 mm, and biochemical tests were carried out by inoculation of the colonies using nutrient agar saline media, then biochemical tests were carried out. . The results of the examination of samples carried out at the Laboratory of the Fish Quarantine Station for Quality Control and Safety of Fishery Products Medan II (SKIPM) it can be concluded that none of the 7 samples tested showed positive results for *Vibrio parahaemolyticus* bacteria from marine samples, for media and test reagents. used is correct and in accordance with testing on positive control of *Vibrio parahaemolyticus* bacteria

Keywords: Isolation; Identification; *Vibrio parahaemolyticus*; Vannamei Shrimp; Vibriosis Disease

*corresponding author

Email : siregartoibullah@gmail.com

Recommended APA Citation :

Siregar, T., Siswoyo, B.H., Syafitri, E. (2021). Isolasi dan Identifikasi *Vibrio parahaemolyticus* pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Penyebab Penyakit Vibriosis. *J.Aquac.Indones*, 1(1): 7-14. <http://dx.doi.org/10.46576/jai.v1i1.1389>.

PENDAHULUAN

Udang merupakan salah satu andalan produk ekspor Indonesia serta sangat diminati oleh negara-negara tujuan lainnya seperti USA, Uni Eropa dan Jepang. Berdasarkan Kementerian Kelautan dan Perikanan pada tahun 2019 Indonesia berada pada posisi nomor 4 ekspor udang beku terbanyak di dunia. Kementerian kelautan dan perikanan menargetkan pada tahun 2024 nilai ekspor produk udang beku dapat mencapai 250%. Langkah yang diambil untuk mencapai hal tersebut maka dilakukan peningkatan kualitas hasil perikanan, namun terdapat ancaman seperti penyakit. Untuk keberhasilan dalam pengendalian penyakit sangat ditentukan oleh ketepatan diagnosis maupun penanggulangan, namun hingga sampai saat ini masih menggunakan obat-obatan yang terbukti menyebabkan resisten terhadap bakteri sehingga perlu mencari alternatif lain yang lebih efektif dan aman.

Ekspor udang mengalami permasalahan pada beberapa tahun belakangan, masalah ekspor udang Indonesia yang mengakibatkan volume dan nilai ekspor menurun dan masalah yang dihadapi berkaitan dengan standar mutu dan sanitasi (Ditjen P2HP-KKP, 2010). Permasalahannya berkaitan dengan sanitasi pada komoditas udang karena adanya kontaminasi bakteri patogen seperti *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus*, dan *Vibrio cholera* (DKP, 2003).

Permasalahan pada tahun 2005 juga terjadi penolakan sebanyak 26 ton ekspor udang Indonesia oleh Uni Eropa karena terjadi kontaminasi *V. parahaemolyticus*, sedangkan pada tahun 2007 ekspor produk sushi ebi sebanyak 4.8 ton ditolak oleh Uni Eropa karena alasan yang sama (Ditjen P2HP-KKP 2010), kasus terakhir terjadi pada tahun 2009 dan 2010 sebanyak 27 ton dan 13 ton ekspor ikan Indonesia ditolak oleh Cina karena terkontaminasi *V. parahemolyticus*. Wong et al., (1999) melaporkan bahwa produk perikanan yang diekspor ke Taiwan dari beberapa negara di Asia termasuk Indonesia pernah terdeteksi mengandung *V. parahaemolyticus*, meskipun pada seluruh sampel tidak ditemukan *V. parahaemolyticus* patogenik yang diidentifikasi dengan metode PCR.

Vibrio spp. merupakan flora normal pada lingkungan perairan payau seperti pantai atau muara sungai serta umum terdapat selama kegiatan budidaya udang (Vandenbergh et al., 2003). Keberadaan *Vibrio* spp memiliki kaitan dengan bahan organik dan fluktuatif oksigen terlarut pada lahan budidaya. Udang vanname merupakan salah satu agen transmisi bakteri *V. parahaemolyticus* menuju inang

manusia. Menurut Alam et al., (2002), *V. parahaemolyticus* merupakan salah satu penyebab utama dari 20-30% kasus gastrointestinal pada manusia yang terjadi di negara-negara Asia termasuk Jepang, Hong Kong, Thailand, dan Indonesia. Bakteri *V. parahaemolyticus* dapat masuk ke sistem gastrointestinal manusia melalui konsumsi udang vannamee mentah atau kurang matang yang telah terinfeksi *V. parahaemolyticus* (Faruque, 2012). Bakteri *V. parahaemolyticus* yang telah menemukan kondisi optimal di bagian gastrointestinal manusia akan memulai kolonisasi organisme inang untuk mendapat nutrisi dengan tujuan mempertahankan pertumbuhannya (Labbe & Garcia, 2013).

Bakteri *Vibrio* spp. pada umumnya menyerang udang pada stadia zoea, mudid dan awal post larva sehingga menghambat penyediaan benih udang sehat sampai dengan jumlah besar. Gejala awal akan terlihat dalam waktu 1-3 hari, jika udang sudah terserang maka akan sulit untuk diselamatkan sehingga seluruh udang akan dimusnahkan agar tidak terjadinya mutasi dengan berbagai media seperti air ataupun udara. Manfaat dari penelitian ini diharapkan sebagai informasi awal ataupun lanjutan kepada masyarakat, para peneliti dan pemerintah terkait isolasi, identifikasi *Vibrio parahaemolyticus* serta diharapkan sebagai informasi maupun salah satu langkah untuk menjamin keamanan pangan hasil perikanan sehingga aman untuk dikonsumsi

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan yaitu Laminarflow-hood (*safety cabinet*), peralatan bedah, meja bedah, cawan petri, labu Erlenmeyer, tabung reaksi, jarum ose, bunsen, pipet tetes, pipet berskala, stomacher, autoclave, timbangan analitik dengan ketelitian 0,01 g, oven, incubator, *hot plate stirrer*, *magnetic stirrer*, botol semprot, rak tabung reaksi, alat tulis, mikroskop, dan refrigerator.

Persiapan media yang digunakan untuk isolasi dan uji biokimia bakteri adalah: ASPW (*Alkaline Saline Pepton Water*), TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose Agar*), SNA (*Saline Nutrient Agar*), Oxidase, ODC (*Ornithine Decarboxylase*), LDC (*Lysine Decarboxylase*), ADH (*Arginine Dihydroxylase*), Galactosidase, *Production of Indol*, Saline Pepton Waters (NaCl 0%, 2%, 6%, 8%, 10 %), *Sodium Chloride Solution*, *Production of Ga (Glucose)*, Lactose, Sucrose dan ONPG Hydrolysis serta udang vannamee yang berasal dari perusahaan yang ada di wilayah kerja SKIPM Medan II.

Metode Penelitian

Pre Enrichment

Siapkan 25 gram sampel pada 225 ml larutan *Alkaline Saline Peptone Water*, lalu dilakukan inkubasi pada suhu 41,5 °C selama 6 jam±1 jam untuk sampel udang segar.

Enrichment

Pindahkan dari ASPW ke media pengaya. Ambil 1 ml pindahkan ke media ASPW 10 ml, inkubasi pada suhu 41,5 °C selama 18 jam±1 jam.

Isolasi dan Identifikasi

Pindahkan, goresan pada media TCBS agar dari masing-masing media ASPW, Inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam±3 jam, lalu pengamatan koloni yang tumbuh dan ditandai koloni yang diduga sebagai *Vibrio* sp, ciri yang dapat diperhatikan yaitu warna hijau lembut (sukrosa negative) dengan diameter 2-3 mm *V. parahaemolyticus*, tandai dengan minimal 5 koloni dari masing-masing media atau seluruh koloni jika koloni mencirikan kurang dari 5 koloni.

Uji Biokimia

Inokulasi masing-masing koloni ke media saline nutrient agar dan inkubasi selama suhu 37 °C selama 24 jam ±3 jam. Lalu lakukan pemeriksaan uji biokimia.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengujian sampel yang diambil dari para petambak udang di Kabupaten Langkat, didapat hasil sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil pengujian sampel

No Sampel	Negatif	Positif
TIK001	√	
TIK003	√	
TIK004	√	
TIK005	√	
TIK007	√	
TIK008	√	
TIK009	√	
Kontrol Positif (VB2)		√

Berdasarkan data diatas dapat diketahui bahwa setiap tambak di daerah Kabupaten Langkat menunjukkan hasil negative dari bakteri *V. parahaemolyticus*. Dalam penelitian ini wilayah sampling adalah Kecamatan Babalan, Gebang dan Secanggang yang merupakan sentral budidaya udang di Kabupaten Langkat. Sampling dilakukan dengan cara mendatangi petambak udang secara langsung untuk dilakukan wawancara dan mengambil sampel menggunakan anco untuk kemudian di masukkan ke dalam pelastik yang sudah berisi air dan dibawa ke laboratorium SKIPM Medan II untuk selanjutnya dilakukan analisa.

Sampel yang di uji sebanyak 25 gram kemudian di masukkan ke ASPW (*Alkaline Saline Peptone Water*) sebanyak 225 ml kemudian di stomacher Selama 60 detik. Selanjutnya dinkubasi pada suhu $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 6 jam ± 1 jam. Setelah selesai di inkubasi dari ASPW ke media pengaya dengan cara diambil 1 ml pindahkan ke media ASPW 10 ml dan diinkubasi pada suhu $41,5^{\circ}\text{C}$ selama 18 jam ± 1 jam.

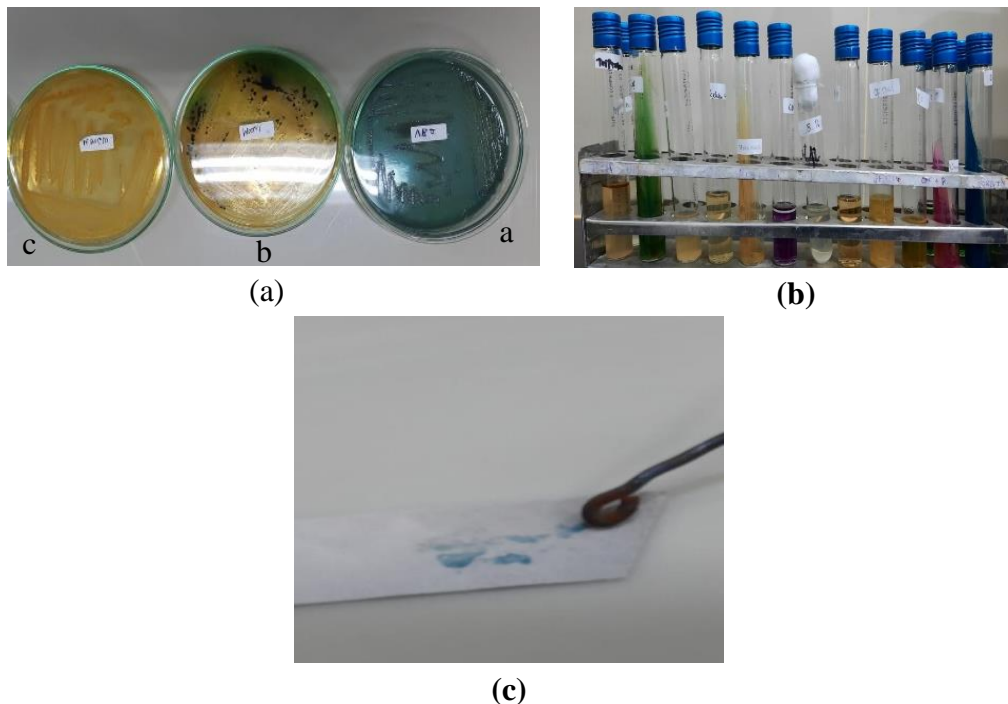
Selanjutnya sampel di pindahkan dengan cara menggores pada media TCBS agar dari masing masing media ASPW tersebut. kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam ± 3 jam. Selanjutnya diamati koloni yang tumbuh dan tandai koloni yang diduga sebagai *Vibrio* spp dengan memperhatikan ciri Koloni *V. parahaemolyticus* warna hijau lembut (sukrosa negatif) dengan diameter 2-3 mm.

Koloni hijau yang tumbuh pada media TCBS dilanjutkan inokulasi ke media *saline nutrient agar* dan inkubasi selama suhu 37°C selama 24 jam ± 3 jam dan di lanjutkan pemeriksaan uji biokimia. Bakteri *V. parahaemolyticus* yang menunjukkan hasil positif ditandai dengan hasil uji biokimia.

Tabel 2. Parameter uji biokimia pada bakteri *V. parahaemolyticus*

Test	<i>V. parahaemolyticus</i>
Oksidase	+
TSI gas from glucose	-
TSI acid from lactose	-
TSI acid from sucrose	-
TSI H ₂ S	
ODC	+
Lysine decarboxylase	+
ONPG reaction	-
ADh	-
Produksi Indol	+
Growth in peptone water with	-
0 % NaCl	+
2 % NaCl	+
6 % NaCl	+
8 % NaCl	-
10 % NaCl	-

Berdasarkan hasil pengujian semua sampel yang masuk tersebut menunjukkan hasil negatif sesuai dengan metode ISO/TS 21872-1:2007. Berikut ini adalah gambar dari hasil pengujian yang telah dilakukan pada media TCBS antara kontrol positif dan hasil pemeriksaan sampel yang telah dilakukan.



Gambar 1. Hasil pengujian pada media TCBS. a. (a) kontrol Positif; (b & c) sampel uji; b. Uji Biokimia kontrol positif; c. Uji Oksidase control Positif

Berdasarkan gambar diatas dapat diketahui bahwa sampel uji berwarna kuning, hal ini dikarenakan koloni yang tumbuh memfermentasi sukrosa menjadi asam pada TCBS sehingga berubah menjadi warna kuning. Sementara bakteri *V. parahaemolyticus* tidak mampu memfermentasi sukrosa sehingga tetap berwarna hijau (Fardiaz, 1983). Koloni yang berwarna kuning tidak dilakukan uji biokimia karena bukan merupakan karakteristik bakteri *V. parahaemolyticus*. Untuk memastikan kebenaran media dan kontrol positif dilanjutkan dengan pengujian biokimia.

Hasil uji biokimia yang telah dilakukan menunjukkan hasil yang sesuai dengan tabel indikator uji *V. parahaemolyticus*. Hal ini menunjukkan media yang digunakan sesuai dan tidak ada kontaminasi pada saat dilakukan pembuatan media ataupun saat penanaman bakteri ke media yang digunakan.

Berdasarkan dari semua sampel yang dilakukan pemeriksaan menunjukkan bahwa tidak ada sampel yang terkontaminasi *V. parahaemolyticus*, namun hal ini harus tetap menjadi perhatian dalam penanganan selanjutnya, yaitu saat penyimpanan, pengiriman serta pengolahan. Bukan tidak mungkin dari 7 sampel yang terkontaminasi *Vibrio* halofilik ini menyerang udang, bila penanganan selanjutnya tidak baik. Demikian pula bila proses pengolahan tidak sempurna, maka dapat menimbulkan penyakit. Selain itu pencegahan di hulu adalah bagaimana cara mendapatkan bibit unggul yang bebas dari sumber penyakit, sehingga para petambak juga mendapatkan hasil yang maksimal.

Daniels et al., (2000) menyatakan bahwa negara empat musim, kasus gastroenteritis yang disebabkan oleh *V. parahaemolyticus* banyak menyerang pada

musim panas seperti halnya kasus di Amerika Serikat, Canada dan Jepang yang secara rutin terjadi setiap tahunnya. Hal ini dikarenakan pertumbuhan optimum *V. parahaemolyticus* adalah pada suhu 37 °C, yang tentunya suhu yang mendekati suhu tersebut dapat dicapai pada musim panas. Berbeda dengan negara tropis yang suhu perairan lautnya relatif hangat, menjadikan kasus gastroenteritis yang disebabkan oleh *V. parahaemolyticus* harus di waspadai. Salah satu penyebabnya, udang selalu tersedia di pasaran setiap waktu. Meskipun hingga sampai saat ini tidak ada data lengkap mengenai infeksi bakteri di Indonesia, bukan tidak mungkin kasus gastroenteritis yang menyerang para pasien di rumah sakit disebabkan oleh *V. parahaemolyticus*.

Berdasarkan pemeriksaan hasil sampel bahwa tidak ada sampel yang terkontaminasi *V. parahaemolyticus*, namun dari hasil isolasi dengan menggunakan TCBS 75% sampel udang positif mengandung *Vibrio*, meskipun demikian bakteri ini memiliki berbagai macam *Vibrio* halofilik, seperti *Vibrio alginolyticus*, *V. furnissii*, *V. carchariae*, *V. hollisae*, *V. cincinnatiensis*, *V. metschnikovii*, *V. damsela*, *V. mimicus*, *V. fluvialis*. Dalam hal ini, juga memiliki keterkaitan terhadap proses pengolahan yang tidak sempurna, yang dapat menyebabkan timbulnya penyakit.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pemeriksaan sampel di laboratorium Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Medan II dapat disimpulkan bahwa dari ke 7 sampel yang di uji tidak ada yang menunjukkan hasil positif bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dari sampel udang laut. Selanjutnya media dan reagen uji yang digunakan benar dan sesuai ketika dilakukan pengujian pada kontrol positif bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Perlu adanya perluasan sampling sehingga akurasi hasil yang didapat khususnya di kabupaten langkat dapat lebih baik. Selain itu perlu adanya tindak lanjut dari pemerintah setempat untuk tetap menjaga sumber bibit udang yang tertelusur dan dapat dijamin kesehatannya atau dalam kata lain bebas hama dan penyakit ikan karantina

DAFTAR PUSTAKA [Times New Roman 12 pt, bold, left]

- Alam, M. J., Tomochika, K.-I., Miyoshi, S.-I., & Shinoda, S. (2002). Environmental investigation of potentially pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in the Seto-Inland Sea, Japan. *FEMS Microbiology Letters*, 208(1), 83–87. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2002.tb11064.x>
- Daniels, N. A., MacKinnon, L., Bishop, R., Altekruze, S., Ray, B., Hammond, R. M., Thompson, S., Wilson, S., Bean, N. H., Griffin, P. M., & Slutsker, L. (2000). *Vibrio parahaemolyticus* Infections in the United States, 1973–1998. *The Journal of Infectious Diseases*, 181(5), 1661–1666. <https://doi.org/10.1086/315459>

- DKP. (2003). *Laporan Sidang Global Shrimp Outlook 2003*.
- Fardiaz, S. (1983). *Keamanan Pangan*. Fakultas Pertanian. IPB.
- Faruque, S. M. (2012). *Foodborne and Waterborne Bacterial Pathogens: Epidemiology, Evolution and Molecular Biology*. Caister Academic Press.
- Labbe, R. G., & Garcia, S. (2013). *Guide to Foodborne Pathogens*. John Wiley & Sons.
- P2HP-KKP, D. (2010). *Rekapitulasi penolakan kasus RAS 2005-2009*.
- Vandenbergh, J., Thompson, F. L., Gomez-Gil, B., & Swings, J. (2003). Phenotypic diversity amongst *Vibrio* isolates from marine aquaculture systems. *Aquaculture*, 219(1–4), 9–20. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00312-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00312-5)
- 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. *International Journal of Food Microbiology*, 52(3), 181–188. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00143-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00143-9)