**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* PADA UDANG VANAME**

***(LITOPENAEUS VANNAMEI)* PENYEBAB PENYAKIT VIBRIOSIS**

Toibbullah Siregar, Bambang Hendra S, Emmy Syafitri

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 d ilakukan dengan metode ISO/TS 21872-1:2007 langkah yang dilakukan yaitu pre enrichment dengan menggunakan sampel sebanyak 25gram yang dilarutkan dengan menggunakan alkaline saline peptone water 225ml, lalu diinkubasi selama 6jam dengan suhu 41,50C sedangkan untuk sampel segar memerlukan waktu ± 1 jam, selanjutnya enrichment dengan suhu 41,5oC selama 18 jam ± 1 jam, selajutnya dilakukan isolasi serta identifikasi dengan menggunakan media *Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose* (TCBS), lau dilakukan inkubasi pada suhu 37oC selama 24 jam ± 3 jam, setelah itu dilakukan pengamatan dengan ciri-ciri koloni pada *V. parahaemolyticus* lembut warna hijau (sukrosa negatif) dengan diameter 2-3mm, 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 disimpulak 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 control positif bakteri *Vibrio parahaemolyticus.*

Kata kunci:

**PENDAHULUAN**

Udang merupakan salah satu produk andalan produk ekspor Indonesia serta sangat diminati oleh negara-negara tujuan lainnya seperti USA, Uni Eropa dan Jepang. Berdasarkan Kementrian Kelautan dan Perikanan pada tahun 2019 Indonesia berada pada posisi nomor 4 ekspor udang beku terbanyak di dunia. Kementrian kelautan dan perikanan menargetkan pada tahun 2024 nilai ekspor produk udang beku dapat mencapai 250 persen. Langkah yang dimabil untuk mencapai hat tersebut maka dilakukan meningkatkan kualitas hasil perikan, namun terdapat ancaman seperti penyakit. Untuk keberhasilan dalam pengendalian penyakit sangat ditentukan oleh ketepatan diagnosis maupun penanggulangan, sehingga sampai saat ini masih diaplikasi obat-obatan yang terbukti menyebabkan resisten terhadap bakteri sehingga perlu mencari alternative lain yang lebih efektid 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 (KKP 2009). Permasalahannya berkaitan dengan sanitasi pada komoditas udang kaena adanya kontaminasi bakteri pathogen 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 (Vandenberghe *et al.* 2003). Keberadaan *Vibrio*  sp 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 temasuk Jepang, Hong Kong, Thailand, dan Indonesia. Bakteri *V. parahaemolyticus* dapat masuk ke sistem gastrointestinal manusia melalui konsumsi udang vanname 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 nutrien dengan tujuan mempertahankan pertumbuhannya (Labbe dan Garcia, 2013).

Bakteri *Vibrio* sp. 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 mutan 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.

Bahan dan Metode

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 vanname yang berasal dari perusahaan yang ada di wilayah kerja SKIPM Medan II.

Metode Penelitian

Metode ISO/TS 21872-1:2007 dengan langkah-langkah sebgai berikut:

**Pre Enrichment**

Siapkan 25 gram sampel pada 225 ml larutan Alkaline Saline Peptone Water, lalu dilakukan inkubasi pada suhu 41,5oC 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 41,5oC selama 18 jam ± 1 jam.

**Isolasi dan Identifikasi**

Pindahkan, goresan pada media TCBS agar dari masing-masing media ASPW, Inkubasi pada suhu 37oC selama 24 jam ± 3 jam, lalu pengamatan koloni yang tumbuh dan ditandai koloni yang diduga sebagai *Vibrio* sp, ciri yang dapat diperhatikan yaitu lembut warna hijau (sukrosa negative) dengan diameter 2-3mm *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 media saline nutrient agar dan inkubasi selama suhu 37oC selama 24 jam ± 3 jam. Lalu dilakukan pemeriksaan uji biokimia.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Hasil**

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

Tabel 2. 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 didaerah kabupaten langkat memiliki hasil negative dari bakteri *V. parahaemolyticus*. Dalam penelitian ini wilayah yang saya sampling adalah kecamatan Babalan, Gebang dan Secanggang yang merupakan central 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 kedalam pelastik yang sudah berisi air dan dibawa kelaboratorium 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.Selanjutnyadinkubasi pada suhu 37oC ± 1oC 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 41,5oC 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 37oC selama 24 jam ± 3 jam. Selanjutnya diamati koloni yang tumbuh dan tandai koloni yang diduga sebagai *Vibrio* spp dengan memperhatikan ciri Koloni *V. parahaemolyticus* lembut warna hijau (sukrosa negatif) dengan diameter 2-3 mm.

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

Tabel 3. Parameter uji biokimia pada bakteri *V. parahaemolyticus*

|  |  |
| --- | --- |
| **TEST** | **V. parahaemolyticus** |
| **Oksidase** | + |
| **TSI gas from glucose** | - |
| **TSI acid from lactose** | - |
| **TSI acid from sucrose** | - |
| **TSI H2S** |  |
| **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. Keterangan: Kanan Kontrol Positif, tengah dan kiri sampel uji

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. Berikut ini adalah gambar hasil uji biokimia control positif.



Gambar 2. Uji Biokimia kontrol positif



Gambar 3 Uji Oksidase control Positif

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

Berdasarkan Daniels *et ai* (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 sebagai 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 hasil sampel yang dilakukan pemeriksaan 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* halofilik adalah *Vibrio alginolyticus, V. furnissii, V. carchariae, V. hollisae, V. cincinnnatiensis, V. metschnikovii, V. damsela, V. mimicus, V. fluvialis*. Dalam hal ini, juga memiliki keterkaitan terhadap proses pengilahan yang tidak sempurna, yang dapat menyebabkan timbulnya penyakit.

**KESIMPULAN DAN SARAN**

**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.*

**Saran**

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 kesehatanya atau dalam kata lain bebas hama dan penyakit ikan karantina.

**DAFTAR PUSTAKA**

Ababouch L, Gandini G, Ryder J. 2005. Causes of Detentions and Rejections in International Fish Trade. *FAO Fisheries Technical Paper 473*. Food and Agriculture Organization of United Nations.

Alam, M.H., Tomochika, K., Miyoshi, S., dan S. Shinoda. 2002. Environmental Investigation of Potentially Pathogenic Vibrio parahaemolyticus in Seto-Inland Sea, Japan. FEMS Microbiology Letters. 208: 83-87

Alapide-Tendencia EV, Dureza LA. 1997. Isolation of *Vibrio* spp. from *Penaeus*

*monodon* ( *Fabricius*) with red disease syndrome. *Aquaculture* 154: 107-l 14.

Anderson MLA *et al*. Non-01 *Vibrio cholerae* septicemia: case report, discussion of literature, and relevance to bioterorism. *Diagn. Microbiol Infect Dis* 49 (4): 295-297.

Ausubel FM *et al.* 1987. Current Protocols in Molecular Biology. New York- Wiley.

Balter S et al. 2006. Vibrio parahaemolyticus infections associated with consumption of raw shellfish - three states, 2006. [http://www.cdc.gov/epo/dphsi/phs/infdis.htm. Diakses 15 April 2010](http://www.cdc.gov/epo/dphsi/phs/infdis.htm.%20Diakses%2015%20April%202010).

Barbieri E et al. 1999. Occurrence, diversity, and pathogenicity of halofilic Vibrio spp. and non-O1 Vibrio cholerae from estuarine waters along the Italian Adriatic Coast. Appl. Environ. Microbiol 65: 2748– 2753.

Barker WH, Gangarosa EJ. 1974. Food poisoning due to Vibrio parahaemolyticus. Ann. Rev. Med. 25:75-81.

Baumann P, Schubert RHW. 1984. Family II. Vibrionaceae. Di dalam Krieg NR, Holt JG. (Eds.), Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins Co., Baltimore, 516–550.

Badan Standardidasi Nasional. 2006. Standar Nasional Indonesia (SNA 01- 2705.1-2006) : Udang Beku-Bagian 1: Spesifikasi. Badan Standardidasi Nasional.

Bej AK et al. 1999. Detection of total and hemolysin-producing Vibrio parahaemolyticus in shellfish using multiplex PCR amplification of tl, tdh, and trh. Journal of Microbiology Methods 36: 215–225.

Bonang G, Lintong M, Santoso US. 1974. The isolation and suspectibility to various antimicrobial agents of Vibrio parahaemolyticus from acute gastroenteritis cases and from seafood in Jakarta. Didalam: Fujino T, Sakaguchi G, Sakazaki R, dan Takeda Y, eds. *International Symposium on Vibrio parahaemolyticus*. Tokyo; Saikon 27-31.

Bhunia AK. 2008. *Foodborne Microbial Pathogens*: *Mechanism and Pathogenesis.* Food Science Text Series. Springer.

Brown TA. 1992. Genetics: Molecular Approach, Second Edition. Chapman dan Hall, London.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 1999. Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* infection associated with eating raw oysters and clams harvested from Long Island Sound—Connecticut, New Jersey and New York, 1998. *Morb. Mortal. Wkly. Rep*. 48: 48–51.

Chilek TZT. 2006. Prevalence and molecular characteristic of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from cultured tiger prawns (*Penaeus monodon*) from Malacca [thesis]. University Putra Malaysia.

Chiou C-S, Hsu S-Y, Chiu S-I, Wang T-K, Chao C-S. 2000. Vibrioparahaemolyticus serovar O3:K6 as cause of unusually high incidence of food-borne disease outbreaks in Taiwan from 1996 to 1999. J of Clinical Microbiol 38 (12): 4621–4625.

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.

Cook DW et al. 2002. Vibrio vulnificus and Vibrio parahaemolyticus in U.S. retail shell oysters: A national survey from June 1998 to July 1999. . Food Prot 65: 79-87.

Cordova JL, Astorga J, Silva W, Riquelme C. 2002. Characterization by PCR of Vibrio parahaemolyticus isolates collected during the 1997-1998 Chileanoutbreak. Biol Res. 35: 443-440.

Daniels NA et al. 2000. Vibrio parahaemolyticus infections in the United States, 1973–1998. Journal of Infectious Diseases 81:1661–1666.

Departemen Kelautan dan Perikanan. 2003. Laporan Sidang Global Shrimp Outlook 2003. Mexico, 3-6 November 2003.

DePaola A, Hopkin LH, Peeler JT, Wentz B, McPhearson RM. 1990. Incidence of Vibrio parahaemolyticus in US Coastal Waters and Oysters. Appl. Environ. Microbiol 56: 2299–2302.

DePaola A, Kaysner CA, Bowers JC, Cook DW. 2000. Environmental nvestigations of Vibrio parahaemolyticus in oysters following outbreaks in Washington, Texas, and New York (1997 and 1998). *Appl. Environ. Microbiol*. 66:4649–4654.

DePaola A, Nordstrom JL, Bowers JC, Wells JG, Cook DW. 2003a. Seasonal Abundance of Total and Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Alabama Oysters. *Appl. Environ. Microbiol* 69 (3): 1521-1526.

DePaola A *et al*. 2003b. Molecular, serological, and virulence characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from environmental, food, and clinical sources in North America and Asia. *Appl. Environ. Microbiol* 69: 3999–4005.

Dewanti-Hariyadi R, Suliantari, Nuraida L, Fardiaz S. 2002. Determination of contamination profiles of human bacterial pathogens in shrimp obtained from Java, Indonesia. *Di dalam* Determination of Human Pathogen Profiles in Food by Quality Assured Microbial Assays. *Proceedings of a Final Research Coordination Meeting* held in Mexico City, Mexico, 22–26 July 2002. Mexico: IAEA-Tecdoc-1431.

Dileep V et al. 2003. Application of polymerase chain reaction for detection of Vibrio parahaemolyticus associated with tropical seafoods and coastal environment. Letters in Applied Microbiology 36: 423–427.

Direkbusaram S, Yoshimizu M, Ezura Y, Ruangpan L, Danayadol Y. 1998. Vibrio spp., the dominant flora in shrimp hatchery against some fish pathogenic viruses. Short Communication. Journal of Marine Biotechnology 6:266-267.

Direktorat Jenderal Pengolahan dan Pemasaran Hasil Perikanan-KKP. 2010. Rekapitulasi penolakan kasus RAS 2005-2009. Kementerian Kelautan dan Perikanan.

Dobosh D, Gomez-Zavaglia A, Kuljich A. 1995. The role of food in cholera transmission. Medicina 55:28-32.

Duan J, Su Y-C. 2005. Occurrence of Vibrio parahaemolyticus in two Oregon oyster-growing Bays. J. Food Sci. 70: 58–63.

Effendi, I., 2004. Pengantar akuakultur. Penebar Swadaya. Jakarta. 188

Faruque, S.M. 2012. *Foodborne and Waterborne Bacterial Pathogens Epidemiology, Evolution and Molecular Biology*. Dhaka: Caister Academic Press

Feldhusen F. 2000. The role of seafood in bacterial foodborne diseases. Microbes and Infection 2 (13): 1651–1660.

Fratamico PM, Bhunia AK, Smith JL. 2005. A Vibrio Species Foodborne Pathogens Microbiology an Molecular Biology.

Goarant C, Merien F, Berthe F, Mermoud I, Perolat P. 1999. Arbitrarily primed PCR to type Vibrio spp. pathogenic for shrimp. Appl. Environ. Microbiol 65:1145–1151.

Gooch JA, DePaola A, Bowers J, Marshall DL. 2002. Growth and survival of Vibrio parahaemolyticus in postharvest American oysters. J. Food Prot 65: 970–974.

Gopal S et al. 2005. The occurrence of Vibrio species in tropical shrimp culture environments; implications for food safety. Int. J. Food Microbiol 102: 151-159.

Hackney CR, Dicharry A. 1988. Seafood-borne bacterial pathogens of marine origin. Food Technology 42: 104–109.

Haliman, R.W dan D. Adijaya S. 2005. *Udang Vannamei*. Jakarta. Penerbit Swadaya

Hara-Kudo Y et al. 2003. Prevalence of Pandemic Thermostable Direct Hemolysin-Producing Vibrio parahaemolyticus O3:K6 in Seafood and the Coastal Environment in Japan. Appl. Environ. Microbiol 69 (7): 3883–3891.

Hida T, Yamamoto K. 1990. Cloning and expression of two genes encoding highly homologous hemolysins from a Kanagawa-phenomenon-positive Vibrio parahaemolyticus T4750 strain. Gene 93:9–15.

Honda S et al. 1987. Gastroenteritis due to Kanagawa negative Vibrio parahaemolyticus. Lanceti. 331–332.

Honda T, Ni Y, Miwatani T. 1988. Purification and characterization of a hemolysin produced by a clinical isolates of Kanagawa phenomenonnegative Vibrio parahaemolyticus and related to the thermostable direct hemolysin. Infect. Immun. 56: 961–965.

Honda T, Abad-Lapuebla MA, Ni Y, Yamamoto K, Miwatani T. 1991. Characterization of a new thermostable direct haemolysin produced by a Kanagawa-phenomenon negative clinical isolate of Vibrio parahaemolyticus. J. Gen. Microbiol 137: 253–259.

Honda S, Matsumoto S, Miwatani T, Honda T. 1992. A survey of urease-positive Vibrio parahaemolyticus strains isolated from traveller’s diarrhea, sea water and imported frozen sea foods. Eur. J. Epidemiol. 8:861–864.

Honda T, Iida T. 1993. The pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* and the role of the thermostable direct haemolysin and related haemolysins. *Rev Med Microbiol* 4: 106–113.

Holt JG, Krieg NR. 1984. Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology Volume 1. Williams and Wilkins. Baltimore/London.

Https://sumut.bps.go.id/statictable/2020/06/10/2018/produksi-dan-nilai-produksi-perikanan-budidaya-menurut-kabupaten-kota-dan-komoditas-utama-di-provinsi-sumatera-utara-2018.html

Iida T *et al.* 1997. Evidence for genetic linkage between the ure and trh genes in *Vibrio parahaemolyticus*. *J Med Microbiol* 46: 639-645.

Jaesawang D. 2005. Detection of *Vibrio parahaemolyticus* hemolysin genes in frozen shrimps using multiplex polymerase chain reaction [thesis]. Major in Infectious Diseases, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University.

Jannasch HW. 1967. Growth of marine bacteria at limiting concentrations of organic carbon in seawater. *Limnology and Oceanography* 12: 264–271.

Jay JM, Loessner MJ, Golden DA. 2005. Foodborne Gastroenteritis caused by *Vibrio, Yersinia*, and *Camplylobacter* Species, Chapter 28*. Modern Food Micribiology 7th eds.* Food Science Text Series.

Jiravanichpaisal P, Miyazaki T. 1995. Comparative histopathology of vibriosis in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Didalam*: Shariff M, Subasinghe RP, Arthur JR (Eds.). *Diseases in Asian Aquaculture II*. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 123– 130.

Joseph SW, Colwell RR, Kaper JB. 1982. *Vibrio parahaemolyticus* and related halophilic *Vibrios* . *CRC Critical Reviews in Microbiology* 10: 77-124.

Kaneko T, Colwell RR. 1973. Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. *J. Bacteriol* 113: 24–32.

Kaper JB, Campen RK, Seidler RJ, Baldini MM, Falkow S. 1984. Cloning of the thermostabledirect or Kanagawa phenomenon-associated hemolysin of *Vibrio parahaemolyticus*. *Infect Immun* 45:290–2.

Kaper JB, Morris Jr. JG, Levine MM. 1995. Cholera. *Clin. Microbiol. Rev*. 8:48-86.

Karunasagar I, Nayak BB, Karunasagar I. 1997. Rapid detection of *Vibrio parahaemolyticus* from fish by polymerase chain reaction (PCR). *Di dalam*: Flegel, T.W., MacRae, I.H. (Eds.), *Diseases in Asian Aquaculture III*. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, 119– 122.

Kaufman GE, Myers ML, Pass CL, Bej AK, Kaysner CA. 2002. Molecular analysis of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from human patients and shellfish during US Pacific north-west outbreaks. *Letters in Applied Microbiology* 34: 155-161.

Labbe, R.G., dan S. Garcia. 2013. *Guide to Foodborne Pathogens*. Second Edition. Hoboken: Wiley-Blackwell

Levine, W. C., P. M. Griffin, Gulf Coast *Vibrio* Work Group. 1993. *Vibrio* infections on the Gulf Coast: results of first year of regional surveillance. *J. Infect.Dis*. 167:479-483.

Lavilla-Pitogo CR. 1995. Bacterial diseases of penaeid shrimps: An Asian view. *Di dalam* Shariff M, Subasinghe RP, Arthur JR (Eds.). *Diseases in Asian Aquaculture II*. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 107– 121.

Lightner DV. 1993. Diseases of cultured penaeid shrimps. *Di dalam* Mc Vey JP (Eds.). CRC *Handbook of Mariculture, 2nd ed*., CRC Press, Boca Raton, 393– 486.

Martinez-Urtaza J et al. 2004. Characterization of pathogenic Vibrio parahaemolyticus isolates from clinical sources in Spain and comparison ith Asian and North American pandemic isolates. Journal of Clinical Microbiology 42 (10): 4672–4678.

Okuda J *et al.* 1997. Emergence of a unique O3:K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* in Calcutta, India, and isolation of strains from the same clonal group from Southeast Asian travelers arriving in Japan. *J. Clin. Microbiol*. 35: 3150–3155.

Prayitno, S. B. (2016). Penggunaan Ekstrak Daun Bakau (*Rhizopora apiculata*) Untuk Pengobatan Kepiting Bakau (*Scylla serrata*) yang Diinfeksi Bakteri *Vibrio harveyi* terhadap Kelulushidupan. *Journal of Aquaculture Management and Technology* 5(2), 18-25.

Soto-Rodriguez, S.A., Gomez-Gil, B., Lozano-Olvera, R., Betancourt-Lozano, M. dan S. Morales-Covarrubias. 2015. Field and Experimental Evidence of *V. parahaemolyticus*  the Causative Agent of Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease of Cultures Shrimp (*L. vannamei*) in NorthwesternMexico. *Journal of Applied and Environmental Microbiology.* 81 (5): 1689 –1699.

Suprapto. 2007. Petunjuk Teknis Budidaya Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamaei*). Bandar Lampung: Cv. Biota

Tuyet DT *et al.* 2002. Clinical, epidemiological, and socioeconomic analysis of an outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* in Khanh Hoa Province, Vitenam *J. Infect. Dis*. 186:1615-1620.

Vandenberghe J, Thompson FL, Gomez-Gill B, Swings J. 2003. Phenotypic diversity amongst *Vibrio* isolates from marine aquaculture systems. *Aquaculture* 219:9-20.

Xie, Z.Y., Hu, C.Q., Chen, C., Zhang, L.P., dan C.H. Ren. 2005. Investigation of Seven *Vibrio* Virulence Genes Among *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus* Strain rom The Coastal Mariculture Systems in Guangdong, China. *Letters in Applied Microbiology*. 41: 202-207

Wyban, J.A and Sweeney J.N. 2000. Intensive Shrimp Production Technology the Oceanic Institute. Honolulu, Hawai. USA

Wong HC, Chen MC, Liu SH, Liu DP. 1999. Incidence of highly genetically diversified *Vibrio parahaemolyticus* in seafood imported from Asian countries. *Int. J. Food Microbiol* 52: 181–188