

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan yang memiliki potensi perikanan sangat besar. Salah satu komoditas perikanan utama di Indonesia adalah udang. Udang banyak diminati oleh masyarakat sebagai sumber protein hewani. Hal ini disebabkan udang mengandung protein yang tinggi serta vitamin A dan B1. Selain itu, udang juga kaya akan mineral seperti kalsium dan fosfor. Tingginya minat masyarakat menyebabkan permintaan udang terus meningkat. Kondisi ini menjadikan udang sebagai komoditas bernilai ekonomi tinggi yang memberikan keuntungan bagi para pembudidaya (Virgianti et al., 2022).

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) berasal dari kawasan Pantai Barat Pasifik di Amerika Latin, mulai dari Peru di selatan hingga utara Meksiko. Di Indonesia, udang vaname mulai diperkenalkan pada tahun 2001. Jenis udang ini memiliki nilai ekonomis yang tinggi dan menjadi salah satu alternatif udang yang dapat dibudidayakan di Indonesia, selain udang windu (*Penaeus monodon*) dan udang putih (*Penaeus merguensis*). Udang vaname relatif mudah dibudidayakan, sehingga dalam beberapa tahun terakhir, banyak petambak udang di Indonesia yang mulai mengusahakannya. Beberapa keunggulan udang vaname yang cocok untuk budidaya di tambak antara lain: responsif terhadap pakan dan memiliki nafsu makan tinggi, lebih tahan terhadap penyakit serta kondisi lingkungan yang buruk, pertumbuhannya cepat, tingkat kelangsungan hidup yang tinggi, kepadatan tebar yang cukup tinggi, dan waktu pemeliharaan yang relatif singkat, yaitu sekitar 90 hingga 100 hari per siklus (Purnamasari et al., 2017).

Ciprofloxacin merupakan antibiotik spektrum luas yang termasuk dalam golongan fluoroquinolone dan secara klinis terutama digunakan dalam penanganan infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram-negatif. Mekanisme kerja ciprofloxacin bersifat bakterisid, sehingga mampu membunuh bakteri secara langsung. Aktivitas bakterisid tersebut terjadi melalui penghambatan enzim DNA gyrase. Enzim DNA gyrase berperan penting dalam proses relaksasi DNA superkoil selama replikasi materi genetik bakteri. Inhibisi terhadap enzim ini menyebabkan terganggunya proses replikasi dan transkripsi DNA. Gangguan tersebut mengakibatkan terhambatnya pembelahan sel bakteri dan berujung pada kematian sel (Amin et al., 2025). Ciprofloxacin memiliki keunggulan berupa tingkat ketersediaan yang tinggi serta biaya yang relatif ekonomis sehingga mudah diakses dalam praktik klinis. Selain itu, antibiotik ini menunjukkan spektrum aktivitas yang luas terhadap bakteri patogen tertentu dan telah dilaporkan efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio sp.* (Ramadhani et al., 2025).

Salah satu penyakit bakteri yang sering menyerang udang adalah *vibriosis*. Penyakit ini disebabkan oleh infeksi bakteri yang berasal dari genus *Vibrio*. *Vibriosis* merupakan permasalahan utama dalam kegiatan budidaya udang. Penyakit ini dapat ditemukan pada perairan laut, payau, maupun tawar (Sarjito et al., 2015). Bakteri

Vibrio dilaporkan sebagai patogen yang paling dominan menyerang udang. Serangan bakteri ini dapat terjadi pada berbagai stadia kehidupan udang, mulai dari larva, postlarva, hingga juvenil. Infeksi *Vibrio sp.* dapat menyebabkan tingkat kematian yang sangat tinggi. Bahkan, pada kondisi tertentu, tingkat kematian udang dapat mencapai 100%. Sebagai upaya untuk mengendalikan penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen tersebut, pembudidaya umumnya menggunakan antibiotik (Aziza dan Chaidir, 2024).

Infeksi bakteri dari genus *Vibrio* masih menjadi permasalahan utama dalam kegiatan budidaya udang dan berpotensi menimbulkan kerugian ekonomi yang besar (Mahulauw et al., 2022). Penggunaan antibiotik sebagai strategi pengendalian penyakit dalam sektor akuakultur diketahui dapat memicu terjadinya resistensi bakteri yang berdampak pada aspek keamanan pangan dan kesehatan masyarakat (Thorner et al., 2020). Kejadian resistensi *Vibrio sp.* pada produk perikanan budidaya juga telah dilaporkan dalam penelitian terkini (Haifa-Haryani et al., 2022).

Oleh karena itu, penelitian ini penting dilakukan untuk mengetahui dan membandingkan tingkat sensitivitas serta resistensi antibiotik ciprofloxacin terhadap *Vibrio sp.* yang diisolasi dari udang vanname yang berasal dari tambak budidaya dan pasar ritel. Hingga saat ini, informasi mengenai perbedaan pola zona hambat, nilai rerata diameter, serta distribusi kategori resistensi *Vibrio sp.* berdasarkan sumber lingkungan yang memiliki karakteristik paparan antibiotik berbeda masih terbatas. Selain itu, sebagian penelitian sebelumnya lebih berfokus pada persentase resistensi tanpa mengaitkannya secara menyeluruh dengan nilai diameter zona hambat sebagai parameter terukur. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah sebagai dasar evaluasi penggunaan antibiotik pada sektor budidaya perikanan serta menjadi sumber informasi awal mengenai potensi risiko resistensi antibiotik pada produk udang yang beredar di pasaran.

1.2. Teori

1.2.1 Klasifikasi Udang Vanname (*Litopenaeus vannamei*)

Udang vaname *Litopenaeus vannamei* merupakan salah satu spesies krustasea yang memiliki kedudukan taksonomi yang terdefinisi dengan jelas dalam sistem klasifikasi hewan. Spesies ini termasuk dalam kelompok udang penaeid yang banyak dibudidayakan karena nilai ekonomisnya yang tinggi. Penentuan klasifikasi ilmiah dilakukan berdasarkan karakter morfologi, anatomi, serta hubungan filogenetik yang menunjukkan kekerabatan antarorganisme dalam suatu hierarki biologis. Sistem klasifikasi tersebut disusun secara bertingkat mulai dari kingdom hingga spesies untuk memberikan identitas ilmiah yang sistematis. Kejelasan posisi taksonomi penting dalam mendukung kajian ilmiah yang berkaitan dengan aspek biologi dan budidaya (Apriliani et al., 2016).

Menurut Apriliani et al. (2016), berikut adalah klasifikasi udang vaname berdasarkan urutan taksonomi:

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Superphylum	: <i>Ecdysozoa</i>
Phylum	: <i>Arthropoda</i>
Subphylum	: <i>Crustacea</i>
Class	: <i>Malacostraca</i>
Subclas	: <i>Eumalacostraca</i>
Superorder	: <i>Eucarida</i>
Ordo	: <i>Decapoda</i>
Suborder	: <i>Dendrobranchiata</i>
Superfamily	: <i>Penaeoidea</i>
Family	: <i>Penaeidae</i>
Genus	: <i>Litopenaeus</i>
Species	: <i>Litopenaeus vannamei</i>



Gambar 1. Udang Vanname (*Litopenaeus vannamei*) (Megawati, 2017)

1.2.2 Morfologi Udang Vanname (*Litopenaeus vannamei*)

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) termasuk dalam ordo *Decapoda*, yang memiliki sepuluh kaki, terdiri atas lima kaki untuk berjalan dan lima kaki untuk berenang. Seperti jenis udang lainnya, tubuh udang vaname bersegmen, dengan setiap segmen dilengkapi sepasang anggota badan. Secara morfologis, tubuh udang ini terbagi menjadi dua bagian utama, yaitu kepala (*cephalothorax*) yang menyatu dengan dada, serta perut (abdomen). Bagian kepala dilindungi oleh lapisan kulit keras berbahan kitin, yang dikenal sebagai *karapaks* (Nadhif, 2016).

Secara anatomi, bagian *cephalothorax* dan abdomen pada udang vaname terdiri atas ruas-ruas atau segmen-segmen, di mana setiap segmen dilengkapi anggota tubuh dengan fungsi spesifik. Warna tubuh udang vaname umumnya putih transparan, dengan semburat biru di sekitar bagian *telson* dan *uropod*. Jenis kelamin udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dapat dikenali langsung dari bagian luar tubuhnya. Pada udang betina, terdapat *thelicum* yang terletak di antara kaki jalan keempat dan kelima, sedangkan pada udang jantan terdapat *petasma* di antara kaki jalan kelima dan kaki renang pertama. Kemampuan calon induk untuk menghasilkan telur sulit diidentifikasi hanya dari bentuk tubuh secara sepintas. Namun, melalui pengamatan lebih teliti, calon induk dengan bentuk tubuh yang relatif mendatar cenderung menunjukkan respons positif terhadap ablasi mata (Nadhif, 2016).

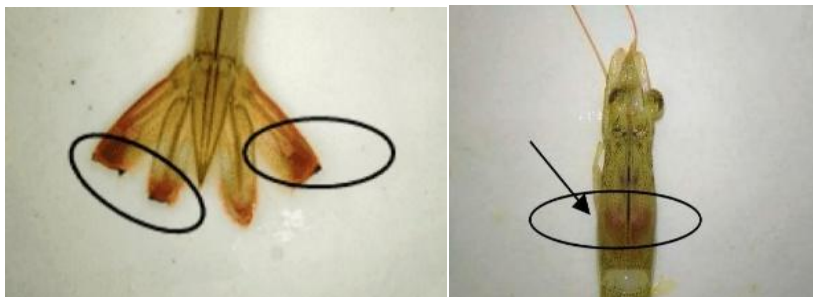
1.2.3 Bakteri *Vibrio sp.* pada Udang Vanname (*Litopenaeus vannamei*)

Bakteri *Vibrio sp.* merupakan salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan kematian pada udang vaname. Bakteri ini umumnya ditemukan secara alami di perairan laut. *Vibrio sp.* bersifat oportunistik, yaitu dapat menjadi patogen ketika kondisi lingkungan atau inang tidak optimal. Infeksi *Vibrio sp.* pada udang vaname dapat menimbulkan berbagai gejala klinis. Gejala tersebut antara lain ditandai dengan kaki renang dan antena yang memerah. Selain itu, kondisi tubuh udang menjadi lemah dan kurang aktif. Oleh karena itu, deteksi dini terhadap kepadatan bakteri *Vibrio sp.* di tambak menjadi sangat penting. Salah satu upaya yang sering dilakukan untuk menekan populasi bakteri patogen seperti *Vibrio sp.* di perairan adalah melalui pemberian probiotik (Aris et al., 2024).

Menurut Schoch et al. (2020), klasifikasi bakteri *Vibrio sp.* adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Bacteria*
 Phylum : *Proteobacteria*
 Class : *Gammaproteobacteria*
 Order : *Vibrionales*
 Family : *Vibrionaceae*
 Genus : *Vibrio*
 Species : *Vibrio sp.*

Penyakit menjadi salah satu kendala utama dalam kegiatan budidaya ikan dan udang. Munculnya penyakit pada ikan atau udang dipengaruhi oleh interaksi antara inang, agen penyebab penyakit, dan lingkungan. Ketiga faktor tersebut saling berhubungan dalam menentukan kondisi kesehatan organisme budidaya. Faktor lingkungan memiliki peranan yang sangat penting dalam interaksi tersebut. Kondisi lingkungan dapat memberikan dampak positif maupun negatif terhadap hubungan antara inang dan patogen. Pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*), penyakit yang sering dijumpai disebabkan oleh bakteri, jamur, dan virus. Serangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri menjadi salah satu permasalahan utama dalam budidaya udang. Penyakit bakterial dapat terjadi pada tahap pembenihan maupun pembesaran di tambak. Kondisi ini sering kali mengakibatkan terjadinya kematian massal, dengan bakteri *Vibrio sp.* sebagai patogen yang paling sering menyerang udang (Mahulauw et al., 2022).

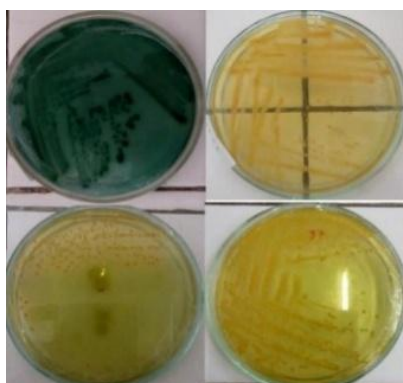


Gambar 2. Udang yang terinfeksi *Vibrio sp.* (Basir et al., 2023).

1.2.4 Morfologi *Vibrio sp.*

Vibrio sp. merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang yang umumnya bersifat motil. Bakteri ini tergolong dalam kelompok mesofilik karena mampu tumbuh optimal pada suhu sedang, yaitu berkisar antara 20–45 °C. Secara fisiologis, *Vibrio sp.* memiliki sifat kemoorganotrofik dengan memanfaatkan senyawa organik sebagai sumber energi utama. Proses perolehan energi tersebut berlangsung melalui mekanisme oksidasi maupun fermentasi. Selain itu, bakteri ini bersifat fermentatif fakultatif sehingga dapat beradaptasi pada kondisi lingkungan yang mengandung maupun tidak mengandung oksigen. Karakteristik tersebut menunjukkan kemampuan adaptasi *Vibrio sp.* yang cukup baik terhadap variasi kondisi lingkungan (Lazuardi, 2022).

Sebagian besar spesies *Vibrio sp.* termasuk dalam kelompok bakteri anaerob fakultatif. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut tetap mampu tumbuh baik pada kondisi aerob maupun anaerob. Dalam pengujian biokimia, *Vibrio sp.* umumnya memberikan hasil positif pada uji oksidase. Bakteri ini juga tidak membentuk spora sebagai struktur pertahanan diri. Seluruh anggota genus ini memiliki kemampuan motilitas yang didukung oleh keberadaan flagel kutub tunggal yang dilengkapi selubung. Struktur flagel tersebut menjadi salah satu ciri khas morfologi genus *Vibrio*. Selain itu, spesies dalam genus ini memiliki dua kromosom, suatu karakteristik yang relatif jarang ditemukan pada bakteri lain (Lazuardi, 2022).



Gambar 3. Koloni bakteri *Vibrio sp.* (Ihsan dan Retnaningrum, 2017).

Koloni bakteri yang tumbuh pada media *Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose* (TCBS) memperlihatkan keragaman warna, seperti hijau, kuning, hijau transparan, oranye, hingga hijau kebiruan. Variasi warna tersebut berkaitan erat dengan kemampuan bakteri dalam memanfaatkan sukrosa sebagai sumber energi. Koloni yang berwarna hijau umumnya menunjukkan bahwa bakteri tidak mampu memfermentasi sukrosa sehingga tidak terjadi perubahan pH yang berarti pada media. Sebaliknya, koloni berwarna kuning menandakan adanya proses fermentasi sukrosa yang menghasilkan senyawa asam dan menyebabkan penurunan pH. Penurunan pH tersebut kemudian memicu perubahan warna indikator yang terdapat dalam media TCBS. Oleh karena itu, perbedaan warna koloni pada media TCBS dapat dimanfaatkan sebagai parameter awal dalam identifikasi bakteri *Vibrio* berdasarkan sifat biokimianya (Ihsan dan Retnaningrum, 2017).

1.2.5 Antibiotik Ciprofloxacin

Ciprofloxacin merupakan antibiotik golongan fluorokuinolon generasi kedua yang memiliki spektrum aktivitas luas, khususnya terhadap bakteri Gram negatif. Antibiotik ini bekerja dengan menghambat enzim DNA gyrase dan topoisomerase IV, yaitu enzim yang berperan penting dalam proses replikasi, transkripsi, serta perbaikan DNA bakteri. Inhibisi terhadap kedua enzim tersebut menyebabkan terganggunya sintesis DNA, sehingga menghambat pembelahan sel bakteri dan berujung pada kematian sel. Oleh karena itu, ciprofloxacin diklasifikasikan sebagai antibiotik yang bersifat bakterisidal dan efektif terhadap berbagai bakteri patogen, termasuk bakteri akuatik seperti *Vibrio sp.* (Hooper dan Jacoby, 2016).

Dalam bidang akuakultur, ciprofloxacin banyak digunakan sebagai agen terapeutik untuk mengendalikan infeksi bakteri pada organisme perairan, termasuk pada sistem budidaya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ciprofloxacin masih menunjukkan aktivitas terhadap *Vibrio sp.*, namun tingkat kepekaan bakteri terhadap antibiotik ini dapat bervariasi, bergantung pada intensitas, frekuensi, dan pola penggunaan antibiotik di lingkungan tambak. Penggunaan ciprofloxacin yang tidak rasional, seperti pemberian tanpa didahului uji kepekaan bakteri serta penggunaan berulang dalam jangka panjang, dapat meningkatkan tekanan selektif terhadap populasi bakteri dan berpotensi mempercepat munculnya bakteri yang resisten terhadap antibiotik (Letchumanan et al., 2015).

1.2.6 Mekanisme Resistensi Antibiotik Ciprofloxacin

Resistensi antibiotik merupakan suatu kondisi ketika bakteri tidak lagi dapat dihambat atau dibunuh oleh antibiotik pada konsentrasi yang sebelumnya efektif. Resistensi ini berkembang sebagai hasil dari kemampuan adaptif bakteri terhadap tekanan selektif akibat penggunaan antibiotik yang berlebihan atau tidak tepat. Fenomena resistensi antibiotik telah menjadi permasalahan global yang serius karena dapat menurunkan efektivitas pengobatan penyakit infeksi, baik pada manusia maupun hewan, termasuk organisme akuatik dalam sistem budidaya perikanan dan akuakultur (Munita dan Arias, 2016).

Mekanisme resistensi antibiotik pada bakteri melibatkan berbagai proses, antara lain mutasi genetik yang menyebabkan perubahan target antibiotik, aktivasi sistem *efflux pump* yang berfungsi mengeluarkan antibiotik dari dalam sel bakteri, penurunan permeabilitas membran sel, serta perolehan gen resistensi melalui horizontal gene transfer, seperti plasmid dan transposon. Dalam lingkungan budidaya udang, bakteri *Vibrio sp.* diketahui mampu mengembangkan resistensi terhadap berbagai jenis antibiotik, termasuk golongan fluorokuinolon. Keberadaan bakteri resisten di tambak tidak hanya menurunkan keberhasilan pengendalian penyakit udang, tetapi juga berpotensi menjadi sumber penyebaran gen resistensi di lingkungan perairan, sehingga evaluasi resistensi antibiotik menjadi aspek yang sangat penting dalam mendukung praktik budidaya udang vaname yang berkelanjutan (Haifa-Haryani et al., 2022).

1.3. Tujuan dan Manfaat Penelitian

1.3.1 Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Mengetahui dan membandingkan tingkat resistensi bakteri *Vibrio sp.* terhadap antibiotik ciprofloxacin pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang berasal dari tambak di Kabupaten Takalar dan pasar ritel di Kota Makassar.

2. Tujuan Khusus

Menganalisis tingkat resistensi bakteri *Vibrio sp.* terhadap antibiotik ciprofloxacin pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diperoleh dari tambak di Kabupaten Takalar dan pasar ritel di Kota Makassar serta membandingkan tingkat resistensi bakteri *Vibrio sp.* antara kedua lokasi tersebut.

1.3.2 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Pengembangan Ilmu

Penelitian ini memberikan pemahaman lebih lanjut mengenai resistensi bakteri *Vibrio sp.* terhadap ciprofloxacin pada udang vaname, khususnya di Kabupaten Takalar dan Kota Makassar, sehingga dapat menjadi dasar bagi penelitian lanjutan tentang pengendalian bakteri patogen pada udang.

2. Manfaat Aplikasi

Penelitian ini memberikan informasi bagi pembudidaya udang untuk menggunakan ciprofloxacin secara lebih bijak, mengurangi risiko resistensi, dan membantu meningkatkan efektivitas pengendalian penyakit dalam budidaya udang vaname.

BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Pengambilan sampel dilakukan pada bulan Februari hingga Oktober 2025 di tambak udang vaname Kabupaten Takalar serta di beberapa pasar ritel di Kota Makassar. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Rumah Sakit Hewan Pendidikan dan Laboratorium Mikrobiologi Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.



Gambar 4. Peta Pengambilan Sampel Udang Vaname, (A) Lokasi Tambak pada titik Balai Perikanan Budidaya Air Payau Takalar, (B) Lokasi Pasar Ritel pada titik Galael Signature Makassar, Pelelangan Ikan Rajawali dan *Hypermart* Panakkukang Boulevard.

Berdasarkan penentuan lokasi pengambilan sampel tersebut, penelitian ini melibatkan 90 sampel udang vaname (*Litopenaeus vannamei*), yang masing-masing terdiri atas 45 sampel dari tambak dan 45 sampel dari pasar ritel. Seluruh sampel yang digunakan merupakan udang pada fase siap panen, dengan umur pemeliharaan berkisar antara 53–108 hari dan berat tubuh dalam rentang 12,1–15,0 gram. Seluruh sampel udang digunakan sebagai sumber isolasi bakteri *Vibrio sp.* dan selanjutnya dianalisis untuk mengevaluasi tingkat resistensinya terhadap antibiotik ciprofloxacin. Distribusi jumlah sampel yang seimbang dari kedua lokasi diharapkan dapat memberikan gambaran yang lebih komprehensif mengenai keberadaan dan tingkat resistensi *Vibrio sp.* pada udang vaname dari hulu hingga hilir.

2.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat tulis, aluminium foil, alat pelindung diri (apd), *autoclaf*, botol semprot, bunsen, camera/kamera, cawan petri, *centrifuge*, *container*, *handscoon*, inkubator, kulkas, mikropipet, *object glass*, ose, penggaris, *plastic wrap*, rak penyimpanan kultur, rak tabung, spirtus, swab steril, tabung reaksi, timbangan digital, dan *vortex*.

Penelitian ini menggunakan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) segar sebagai bahan utama, yang diperoleh dari tambak udang di Kabupaten Takalar dan pasar ritel Kota Makassar. Udang yang dipilih adalah udang siap panen dengan umur pemeliharaan antara 53 hingga 108 hari. Organ hepatopankreas dari setiap udang

diambil sebagai sampel untuk keperluan analisis. Media dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi media TCBS Oxoid (*Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose*), MHA Oxoid (*Mueller Hinton Agar*), NA Himedia (*Natrium Agar*), NB Oxoid (*Nutrient Broth*), akuades, serta disk antibiotik ciprofloxacin oxoid (CIP: 5 µg/disk).

2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan studi observasional analitik dengan pendekatan *cross-sectional comparative*, yang bertujuan untuk mengidentifikasi dan menilai tingkat resistensi *Vibrio sp.* terhadap ciprofloxacin pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dari tambak di Kabupaten Takalar dan pasar ritel di Kota Makassar. Sampel dipilih menggunakan *non-probability sampling* melalui *purposive sampling* berdasarkan kriteria inklusi, agar sampel yang dianalisis relevan dengan tujuan penelitian. Pengambilan sampel dilakukan secara *convenience/accidental sampling* menyesuaikan dengan ketersediaan di lokasi penelitian (Kamaruddin et al., 2019). Parameter yang diamati berupa diameter zona hambat (mm) hasil uji sensitivitas antibiotik menggunakan metode *Disc Diffusion* (Kirby-Bauer).

Besar sampel ditentukan melalui *power analysis* untuk perbandingan dua rerata independen, yang umum diterapkan pada penelitian dengan variabel outcome kontinu. Pendekatan ini memastikan bahwa jumlah sampel cukup untuk mendeteksi perbedaan rerata antara dua kelompok dengan kekuatan uji statistik yang memadai (Clifton et al., 2019).

Berdasarkan Clifton et al. (2019), perhitungan *power analysis* untuk membandingkan dua rerata independen dapat dinyatakan sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 n &= \frac{2(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 \sigma^2}{\Delta^2} \\
 n &= \frac{2(Z_{1-0,5/2} + Z_{1-0,20})^2 5^2}{3^2} \\
 n &= \frac{2(Z_{0,975} + Z_{0,80})^2 5^2}{\Delta^2} \\
 n &= \frac{2(1,96 + 0,84)^2 5^2}{(3)^2} \\
 n &= \frac{2 \times 7,84 \times 25}{9} \\
 n &= \frac{392}{9} \\
 n &= 43,6 \approx 45
 \end{aligned}$$

Keterangan

- n = jumlah sampel per kelompok
- α = tingkat signifikansi (0,05 → dua sisi)
- β = resiko kesalahan 20%
- $1 - \beta$ = power (0,80)
- σ = standar deviasi (5 mm)
- Δ = perbedaan rerata minimal yang ingin dideteksi (3 mm)

$Z_{1-\alpha/2}$ = nilai Z distribusi normal pada taraf signifikansi dua sisi (misal 1,96)

$Z_{1-\beta}$ = nilai Z berdasarkan power penelitian (misal 0,84)

Pada setiap lokasi penelitian digunakan 45 ekor udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Karena penelitian ini melibatkan dua sumber yang berbeda, yaitu tambak budidaya di Kabupaten Takalar dan pasar ritel di Kota Makassar, maka total keseluruhan sampel yang digunakan berjumlah 90 ekor dan akan dilakukan dua kali pengulangan.

Seluruh sampel kemudian dikelompokkan ke dalam enam kelompok perlakuan, masing-masing terdiri atas 15 ekor udang. Tiga kelompok berasal dari tambak budidaya (Tambak 1, Tambak 2, dan Tambak 3), sedangkan tiga kelompok lainnya berasal dari pasar ritel (Pasar Ritel 1, Pasar Ritel 2, dan Pasar Ritel 3). Rincian distribusi sampel pada setiap kelompok perlakuan disajikan pada tabel berikut.

Tabel 1. Pengelompokan udang vaname

Sumber Sampel	Jumlah Sampel
Tambak 1 BPBAP	15 ekor
Tambak 2 BPBAP	15 ekor
Tambak 3 BPBAP	15 ekor
Pasar ritel 1 (Pelelangan)	15 ekor
Pasar ritel 2 (<i>Galael Signature</i>)	15 ekor
Pasar ritel 3 (<i>Hypermart</i> Panakukang)	15 ekor

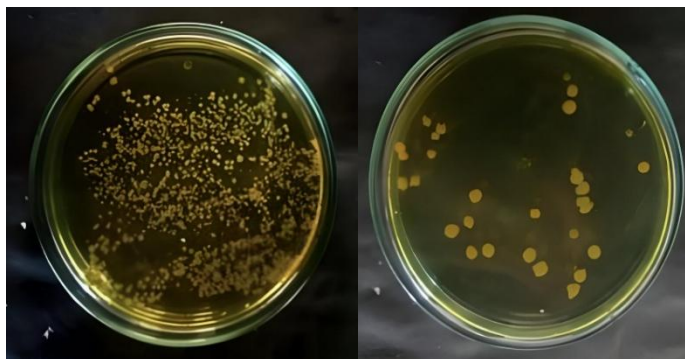
2.4 Pelaksanaan Penelitian

2.4.1 Pengambilan Sampel dan Preparasi Sampel Udang Vanname

Sebanyak 45 sampel udang vanname yang diperoleh dari pasar ritel dan pasar Kota Makassar serta 45 sampel dari tambak udang Kabupaten Takalar. Total dari keduanya adalah 90 sampel udang vanname. Pengambilan sampel di lokasi yang berbeda guna untuk mengidentifikasi apakah terdapat resistensi antibiotik ciprofloxacin. Sampel udang yang diambil dengan berat 12.1-15.0 g, kemudian sampel tersebut di masukkan ke dalam wadah steril dan beri label kode untuk penamaan sampel.

2.4.2 Identifikasi dan Isolasi *Vibrio sp.*

Isolasi bakteri dilakukan untuk memperoleh koloni murni *Vibrio sp.* dari organ hepatopankreas udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Organ diambil secara aseptik dan diinokulasikan ke media *Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose* (TCBS) menggunakan ose steril. Media TCBS bersifat selektif karena mendukung pertumbuhan *Vibrio sp.* sekaligus menghambat bakteri lain. Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 18–24 jam, kemudian koloni yang berwarna kuning akibat fermentasi sukrosa ciri khas *Vibrio sp.* diambil. Koloni tersebut dipindahkan ke media *Nutrient Agar* + NaCl (*NA* + *NaCl*) untuk pemurnian hingga diperoleh koloni tunggal yang homogen. Koloni murni ini selanjutnya digunakan untuk identifikasi dan pengujian lanjutan.



Gambar 5. Isolat bakteri *Vibrio sp.* pada media TCBS (Wulandari dan Lubis, 2024)

Koloni *Vibrio sp.* diamati secara makroskopis untuk menilai karakteristik morfologi, termasuk bentuk sel, warna, ukuran, tipe, elevasi, dan tekstur. Pengamatan ini membantu identifikasi awal bakteri pada isolat. Pada media TCBS Agar (*Thiosulfate Citrate Bile Sucrose*), koloni *Vibrio sp.* dapat berwarna kuning, hijau transparan, oranye, atau hijau kebiruan. Koloni berwarna kuning menunjukkan *Vibrio sp.* yang bersifat *saccharolytic*, artinya dapat memfermentasi gula pada media. Koloni berwarna hijau menunjukkan kemiripan dengan *Vibrio sp. non-sucrose fermenter*.

2.4.3 Uji Sensitifitas Bakteri Terhadap Antibiotik Ciprofloxacin

Uji sensitivitas antimikroba dilakukan menggunakan metode difusi cakram (disc diffusion) pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Isolat bakteri *Vibrio sp.* diuji menggunakan antibiotik ciprofloxacin (CIP: 5 µg/disk). Koloni murni *Vibrio sp.* yang diperoleh dari media *Nutrient Agar* + NaCl (NA + NaCl) terlebih dahulu diinokulasikan ke dalam media cair *Nutrient Broth* (NB) dan diinkubasi hingga terbentuk suspensi bakteri homogen. Suspensi tersebut kemudian dihomogenkan menggunakan vortex, dan kekeruhannya disesuaikan dengan standar McFarland 0,5, setara dengan kepadatan sekitar $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Selanjutnya, suspensi bakteri diinokulasikan secara merata pada permukaan media MHA menggunakan kapas swab steril dengan teknik rotasi agar distribusi bakteri merata di seluruh permukaan media. Setelah inokulasi, media dibiarkan selama kurang lebih 10 menit agar permukaan agar mengering, kemudian cakram ciprofloxacin ditempatkan di atas media dengan jarak yang teratur menggunakan pinset steril.

Media yang telah diberi cakram antibiotik diinkubasi pada suhu 37°C selama 18–24 jam. Setelah masa inkubasi selesai, terbentuk zona bening di sekitar cakram yang menunjukkan area penghambatan pertumbuhan bakteri. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter, lalu hasilnya dibandingkan dengan standar *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) untuk menentukan tingkat resistensi bakteri terhadap ciprofloxacin, yang dikategorikan sebagai sensitif, intermediet, atau resisten.

Menurut Triani et al. (2017), rumus menghitung zona hambat adalah sebagai berikut :

$$\frac{d1 + d2}{2} - X$$

Keterangan :

- d1 : Diameter vertikal zona bening pada media
- d2 : Diameter horizontal zona bening pada media
- x : Diameter kertas cakram (6 mm)

2.4.4 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengidentifikasi morfologi sel dan sifat Gram bakteri melalui pengamatan mikroskopis. Prosedur diawali dengan penyiapan kaca objek yang ditetesi akuades steril, kemudian suspensi bakteri ditambahkan dan dihomogenkan sebelum dilakukan fiksasi hingga kering. Preparat selanjutnya diberi pewarna kristal violet selama 30 detik, diikuti penambahan larutan lugol sebagai mordant untuk mempertahankan pewarna primer. Tahap dekolorisasi dilakukan menggunakan alkohol, yang menyebabkan bakteri Gram-negatif kehilangan pewarna primer, kemudian preparat dibilas dan diberi pewarna safranin sebagai pewarna tandingan. Setelah proses pewarnaan selesai, preparat diamati di bawah mikroskop untuk menentukan morfologi dan sifat Gram bakteri. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa *Vibrio sp.* memiliki bentuk batang melengkung dan tergolong bakteri Gram-negatif. Sisa kultur pada media cair diawetkan dengan penambahan gliserol steril dan disimpan dalam freezer untuk menjaga viabilitas isolat, sementara seluruh tahapan identifikasi dilakukan secara aseptik guna memastikan keakuratan hasil dan mencegah kontaminasi.



Gambar 6. Isolat *Vibrio sp.* bersifat Gram-negatif dan berbentuk batang melengkung (Ramadhaniah et al., 2024).

Pengamatan mikroskopis terhadap *Vibrio sp.* dilakukan melalui metode pewarnaan Gram untuk mengidentifikasi karakteristik morfologi dan sifat dinding sel bakteri. Hasil observasi menunjukkan bahwa bakteri berbentuk batang melengkung menyerupai koma dengan susunan sel tunggal maupun berantai pendek. Proses pewarnaan menggunakan kristal violet sebagai pewarna primer dan safranin sebagai pewarna tandingan untuk membedakan struktur dinding sel. Preparat yang telah diwarnai kemudian diamati menggunakan mikroskop. Pengamatan dilakukan

dengan bantuan minyak imersi guna meningkatkan resolusi sehingga struktur sel dapat terlihat secara lebih jelas dan akurat (Ramadhaniah et al., 2024).

2.5 Pengamatan dan Pengukuran

2.5.1. Parameter Zona Hambat

Parameter zona hambat ditentukan dengan menggunakan mistar berskala atau jangka sorong. Pengukuran dilakukan untuk memperoleh diameter (mm) daerah penghambatan pertumbuhan mikroba, termasuk diameter cakram antibiotik. Besarnya zona hambat yang terbentuk untuk antibiotik ciprofloxacin ditentukan berdasarkan kriteria *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI M45, 2018), yaitu:

- S : Sensitif (diameter zona inhibisi ≥ 21 mm)
- I : Intermediet (diameter zona inhibisi 15-20 mm)
- R : Resisten (diameter zona inhibisi ≤ 15 mm)