

ISOLASI DAN DETEKSI GEN *toxR*, *tdh*, dan *trh* BAKTERI  
*Vibrio parahaemolyticus* PADA IKAN BALEDANG (*Trichiurus*  
*lepturus*, Linn) DENGAN METODA POLYMERASE CHAIN  
REACTION (PCR)

SKRIPSI SARJANA FARMASI

Oleh

ASRI DIAN  
No.BP : 05931051



FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2011

## ABSTRAK

Telah dilakukan studi gen *toxR*, *tdh*, dan *trh* pada bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dari sampel ikan baledang yang diperoleh dari Muaro Padang. Tahap isolasi bakteri didahului dengan menginokulasi sampel dalam medium isolasi selektif *Salt Polymyxin Broth* (SPB) dan medium pertumbuhan selektif CHROMAgar<sup>TM</sup> *Vibrio*. Hasil isolasi menunjukkan bahwa sampel ikan baledang mengandung bakteri *V. Parahaemolyticus* yang ditandai dengan timbulnya koloni berwarna ungu. Selanjutnya dilakukan uji penegasan dengan metoda *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Hasil amplifikasi PCR dideteksi dengan proses elektroforesis gel dan dari tiga puluh delapan kultur yang diisolasi memberikan hasil dua puluh tujuh kultur positif gen *toxR* dan tidak satupun kultur yang positif gen *tdh* dan *trh*.

## I. PENDAHULUAN

Sebagian besar wilayah di bumi dikelilingi oleh lautan, sehingga sumber bahan makanan banyak yang berasal dari laut. Ikan, kerang-kerangan, cumi dan udang merupakan beberapa *seafood* yang cukup digemari karena rasanya yang lezat dan bergizi tinggi. Hasil laut yang paling banyak dikonsumsi oleh masyarakat adalah ikan karena ikan paling mudah diperoleh dan memiliki jenis yang beragam, seperti ikan baledang (*Trichiurus lepturus*, Linn) yang menjadi salah satu komoditas ekspor Indonesia (Ambarwati, 2008). Ikan baledang sangat mudah dikenali dari bentuknya yang panjang dan pipih. Ikan ini dikenal dengan berbagai macam nama lokal yaitu ikan layur (Jawa), meli (Palabuhanratu), baledang (Padang), lajuru (sulawesi selatan), romu (Ambon), dan lajur (Madura). Baledang merupakan tipe ikan predator, yang memakan ikan kecil, udang kecil dan cumi-cumi kecil.

Keamanan mengkonsumsi *seafood* mulai menjadi perhatian setelah terjadinya wabah *foodborne disease* yang diduga karena infeksi *Vibrio parahaemolyticus* pada awal tahun 1950 di Jepang, dan semenjak tahun 1996 mulai pandemik di negara-negara Asia dan Amerika (Wong, 2003; Hara-Kudo, 2003). Menurut Nair *et al.* (2007), Indonesia termasuk salah satu wilayah penyebaran kasus pandemik yang disebabkan oleh bakteri *V. parahaemolyticus*.

Bakteri *V. parahaemolyticus* adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang bengkok, anaerob fakultatif dan bersifat halofilik, yang patogen pada manusia (Wong *et al.*, 1999; Wong, 2003; Nair, *et al.*, 2007; Sujewa *et al.*, 2009). Infeksi dapat terjadi karena mengkonsumsi makanan yang terkontaminasi oleh bakteri patogen, makanan yang dimasak setengah matang, atau makanan yang dikonsumsi



tanpa dimasak (Lida, *et al.*, 1998; Wong, 2003; Okuda *et al.*, 1997;), dengan gejala yang ditimbulkan adalah gastroenteritis yang sifatnya akut.

Bakteri *V. parahaemolyticus* mempunyai gen spesifik yaitu *toxR*. Keberadaan gen ini tidak bersifat patogen terhadap manusia. Namun *V. parahaemolyticus* menghasilkan gen-gen virulen yang sifatnya patogen yaitu gen *tdh* yang bertanggungjawab terhadap produksi toksin berupa *Thermostable Direct Hemolysin* (TDH) dan gen *trh* yang memproduksi toksin *TDH-Related Hemolysin* (TRH). Tingkat virulen *V. parahaemolyticus* tidak dipengaruhi oleh jumlah *V. parahaemolyticus* tersebut, tapi sangat tergantung pada toksin yang dihasilkan gennya (Wong, 2003; Sujewa *et al.*, 2009). Mekanisme patogen *V. parahaemolyticus* sangat berhubungan dengan adanya produksi gen *tdh* dan *trh*, yang memberikan respon terhadap  $\beta$ -hemolisis (Marlina, 2008).

Penelitian mengenai adanya gen virulen pada bakteri *V. parahaemolyticus* telah dideteksi pada beberapa jenis *seafood* diantaranya udang putih (*Penaeus mergensis*), udang kelong (*Penaeus indicus*), pansi (*Corbicula moltkiana. Prime*) dan langkitang (*Faunus ater*) (Marlina, *et al.*, 2007; Mudaris, 2009; Azyenela, 2009). Pada penelitian ini dilakukan deteksi gen *toxR* dan gen virulen pada ikan baledang dengan menggunakan metoda PCR. Dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat diperoleh data mengenai keberadaan gen *toxR* dan gen virulen bakteri *V. parahaemolyticus* yang terdapat pada sampel ikan baledang.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa pada sampel ikan baledang (*T. lepturus*) yang diperoleh dari Muaro Padang, Sumatera Barat terdapat bakteri *V. parahaemolyticus*. Dan dari 38 kultur bakteri *V. parahaemolyticus* yang dideteksi memberikan hasil 27 kultur positif gen *toxR*, dan tidak satupun kultur yang positif gen *tdh* dan gen *trh*.

### 5.2 Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk melakukan identifikasi jenis *Vibrio* lain seperti *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio fulmiticus*, dan *Vibrio cholera* dengan metode PCR pada sampel *T. lepturus*.

## RUJUKAN

Agus, S., Ardilfiet, C., Amin, S., Anis, K., Santoso., Hasrul, H., Budiman, B., Soermarsono, F., Abdul, R., Karsinah., Lina, I., Lucky, H.M., Mardiasuti, H.W., Mathilda, L., Miriam, T., Asmono., Pratiwi, S., Retno, I.S., Robert, U., Sardjito., Suharno, J., Suharto., Suhud, S., Sujudi., Susiana, A., Tertia, H., Miraawati, S., dan Usman, C.W. 1994, *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi revisi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia : Jakarta.

Ambarwati, D.V.S. 2008. *Studi Biologi reproduksi Ikan layur (Superfamili trichiuroidea) di perairan Palabuhanratu, Kabupaten Sukahumi, Jawa Barat*. (Skripsi). Bogor : Institut Pertanian Bogor.

Azyenela, L. 2009. *Deteksi Gen Virulen Bakteri Vibrio parahaemolyticus Dari sample Pensi (Corbicula molitkiana. Prime) Dan Langkitang (Faunus ater) Dengan Metoda Polymerase Chain Reaction (PCR)*. (Skripsi). Padang : Universitas Andalas.

Ansaruzzaman, M., Marcelino Lucas., Jacqueline L. Deen., N.A. Bhuiyan., Xuan-Yi Wang., Ashrafus Safa., Marzia Sultana., A. Chowdhury., G. Balakrish Nair., David A. Sack., Lorenz von Seidlein., Mahesh K. Puri., Mohammad Ali, Claire-Lise Chaignat., John D. Clemens., & Avertino Barreto. 2005. Pandemic serovars (O3:K6 and O4:K68) of *Vibrio parahaemolyticus* Associated with Diarrhea in Mozambique: Spread of the Pandemic into the African Continent. *Journal Of Clinical Microbiology*. Vol. 43. No.6. p2559-2562.

Benson. 2001. *Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology*. 8<sup>th</sup> ed. The McGraw-Hill Companies:US.

Bhuiyan, N, Januari 2002. "Prevalence of Pandemic Genotype of *Vibrio parahaemolyticus* in Dhaka, Bangladesh, and Significance of its distribution across Different Serotype" *Journal of Clinical Microbiology*, Vol 40, p 284-286.

Brooks, G.F. Butel, J.S. & Morse, S.A. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran* (ed.I). Jakarta : Salemba Medika.

Cabrera-García, M.E, Carlos Vázquez-Salinas, & Elsa Irma Quinones-Ramirez. 2004. Serologic and Molecular Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* Strains Isolated from Seawater and Fish Products of the Gulf of Mexico. *Applied And Environmental Microbiology*, Vol. 70. No. 11. P. 6401-6406.