

**ISOLASI DAN DETEKSI GEN VIRULEN BAKTERI  
*Vibrio parahaemolyticus* PADA IKAN TONGKOL  
SISIK (*Thunnus obesus* Lowe) DENGAN METODA  
POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)**

SKRIPSI SARJANA FARMASI

Oleh

*DEBI FELIA KHASTARI*

No.BP : 06931018



FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2011

## ABSTRAK

Telah dilakukan kajian gen virulen bakteri *Vibrio parahaemolyticus* pada ikan tongkol sisik (*Thunnus obesus* Lowe) yang diperoleh dari Pantai Muaro, Pasar Raya dan Pasar Bandar Buat di kota Padang. Sampel diinokulasi dalam media SP Broth dan koloni spesifik diisolasi menggunakan media selektif CHROMAgar<sup>TM</sup> *Vibrio*, uji konfirmasi dilakukan dengan menggunakan metoda *Polymerase Chain Reaction* ( PCR ) untuk mendeteksi keberadaab gen regulator *toxR* dan gen virulen *tdh* dan *trh*. Hasil kajian menunjukkan bahwa sampel ikan tongkol sisik mengandung bakteri *V. parahaemolyticus* yang ditandai dengan timbulnya koloni berwarna ungu. Hasil amplifikasi PCR dideteksi dengan proses elektroforesa gel dan lima puluh enam koloni ungu yang dipilih secara random dari media CHROMAgar<sup>TM</sup> *Vibrio* memberikan hasil 27 koloni ungu (48,21%) positif gen *toxR* dengan 368 bp dan tidak ada yang menunjukkan positif gen *tdh* dan *trh*.

## BAB I PENDAHULUAN

Bakteri merupakan mikroorganisme prokariotik yang berkembang biak dengan cara membelah diri. Dalam pertumbuhan dan perkembangbiakannya, bakteri dipengaruhi oleh suhu, cahaya, kelembaban, pH, oksigen, zat kimia, dan pengaruh mikroorganisme di sekitarnya (Entjang, 2003).

Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* merupakan bakteri Gram negatif dan halofilik yaitu bakteri yang mampu hidup pada salinitas yang tinggi, bersifat patogen pada manusia (Doyle, 1989). Infeksi bakteri ini dapat menyebabkan penyakit gastroenteritis dengan gejala diare, mual, muntah dan pusing. Infeksi ini disebabkan karena mengkonsumsi makanan yang terkontaminasi oleh bakteri patogen atau makanan yang dimasak setengah matang. (Tsunasawa, *et al.*, 1987; Doyle, 1989; Kishishita, *et al.*, 1992 ; Lida, *et al.*, 1998; Okuda, Ishibashi, Abbot, Janda, Nishibuchi, 1997)

Bakteri *V. parahaemolyticus* mempunyai gen *toxR* merupakan gen spesifik yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi bakteri tersebut (Kim, *et al.*, 1999). Selain gen *toxR* juga terdapat gen lainnya seperti gen *tdh* dan gen *trh* yang bersifat virulen. Dari beberapa jurnal penelitian dilaporkan bahwa tidak semua gen *toxR* akan membawa kode gen *tdh* dan *trh* (Hara-Kudo, *et al.*, 2003; Sujewa, *et al.*, 2009). Keberadaan gen *toxR* pada bakteri *V. parahaemolyticus* diperkirakan sebagai pencetus gen-gen penghasil toksin (Kim, *et al.*, 1999). Pada strain bakteri yang membawa gen

tidak akan menghasilkan toksin *Thermostable Direct Hemolysin* (TDH) dan gen *trh* akan menghasilkan toksin *Thermostable-Related Hemolysin* (TRH) yang dapat memberikan respon *Hemolisis* (Lida, *et al.*, 1998; Okuda, *et al.*, 1997; Wong, 2003; Hara-Kudo, *et al.*, 2003; Nair, *et al.*, 2007).

Pada mulanya, bakteri *V. parahaemolyticus* diduga hanya terdapat di Jepang dan negara tetangganya. Akan tetapi, sejak 1971 bakteri ini dilaporkan ditemukan pada berbagai produk laut di berbagai negara termasuk Asia, Australia, Mexico, Inggris, dan Amerika Serikat. (Supardi & Sukanto, 1999; Hara-Kudo, *et al* 2003). Di seluruh dunia bakteri *V. parahaemolyticus* dikenal dengan *food-borne* gastroenteritis. Bakteri ini pertama kali diisolasi pada sampel klinis penderita gastroenteritis akut tahun 1950 di Jepang yang menyebabkan 20 orang meninggal dan 272 orang menderita gastroenteritis (Doyle, 1989).

Ikan tongkol sisik (*Thunnus obesus* Lowe) merupakan salah satu jenis tuna yang sudah dikonsumsi secara luas oleh masyarakat karena rasanya yang enak dan gajanya yang tinggi. Indonesia merupakan salah satu negara pengekspor tongkol terbesar di dunia. Volume total ekspor tongkol pada tahun 2004 mencapai 94.221 ton (Widiastuti, 2008). Ikan ini hidup pada perairan tropis sampai subtropis dari samudra Atlantik, Hindia dan Pasifik. Ikan ini ikan perenang cepat dan hidup bergerombolan saat mencari makan (Zhu, Xu, Zhou, Chen, 2009). Ikan ini merupakan ikan karnivora dan memiliki tempat teratas dalam rantai makanan di laut seperti memakan kelompok ikan kecil lain, cumi-cumi dan krustasea planktonik (Brill, Bigelow, Musyl, Fritches,

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

- A. Pada sampel ikan tongkol sisik (*Thunnus obesus* Lowe) yang diambil di Pantai Muaro Padang tidak terkontaminasi oleh bakteri *V. parahaemolyticus*, sedangkan ikan tongkol sisik (*T. obesus* Lowe) yang diambil di Pasar Raya dan Pasar Bandarbuat terkontaminasi oleh bakteri *V. parahaemolyticus*
- B. Hasil deteksi gen *toxR* dari 5 kali sampling didapatkan 56 kultur koloni ungu pada CHROMAgar<sup>TM</sup> *Vibrio* dari ikan tongkol sisik (*T. obesus* Lowe), 27 koloni (48,21%) diantaranya adalah *V. parahaemolyticus* yang ditunjukkan oleh terdeteksinya gen *toxR*, dari 27 koloni tersebut tidak terdeteksi adanya gen virulen *tdh* dan *trh*.

#### 4.2. Saran

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

## DAFTAR PUSTAKA

Anonim. (1999). Genotyping of pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 still open question. *J. Microbiol.*, Vol 47, No.7, 2708-2709.

Azyenela, L. (2009). *Deteksi gen virulen bakteri Vibrio parahaemolyticus dari sample pensi (Corbicula moltkiana. Prime) dan langkitang (Faumus ater) dengan metoda polymerase chain reaction (PCR)* (Skripsi). Padang : Fakultas Farmasi Universitas Andalas.

Brooks, G.F., Butel, J.S. & Morse, S.A. (2005). *Mikrobiologi kedokteran* (ed.1). Jakarta : Salemba Medika.

Brill, R.W., Bigelow, K.A., Musyl, M.K., Fritsches, K.A., Warrant, E.J. (2005). Bigeye Tuna (*Thunnus obesus*) behavior and physiology and their relevance to stockbassessment and fishery biology. *Col. Vol. Sci. Pap. ICCAT*, 57(2): 142-146.

Cook, D.W., O'Leary, P., Hunsucker, J.C., Sloan, E.M., Bowers, J.C., Blodgett, R.J & DePaola, A. (2002). *Vibrio vulnificus & Vibrio parahaemolyticus* in U.S. retail shell oysters: A national survey from June 1998 to July 1999. *J. Food Prot.*, 65: 79-87.

Doyle, M.P. (1989). *Foodborne bacterial pathogens*. New York : Marcel Dekker, INC.

Dwidjoseputro, D. (1964). *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Penerbit Djambatan : Malang.

Entjang, I. (2003). *Mikrobiologi & Parasitologi untuk akademi keperawatan dan sekolah tenaga kesehatan yang sederajat*. Penerbit PT. Citra Aditya Bakti: Bandung.

Feliatra. (1999). Identifikasi bakteri pathogen (*vibrio sp*) di perairan nongsa Batam provinsi Riau. *J. Natur Indonesia* II (1): 28 – 33.

Hara-Kudo, Y., Sugiyama, K., Nishibuchi, M., Chowdhury, A., Yatsuyanagi, J., Ohtomo, Y., Saito, A., Nagano, H., Nishina, T., N, H., Hirotaka, Konuma., M, Miyahara and Kumugai, S. (2003). Prevalence of pandemic thermostable direct hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 in seafood and the coastal environment in Japan. *Applied. Environ. Microbiol.*, p. 3883–3891, Vol. 69, No. 7.