

PATOGEN VIBRIO PADA KAKAP PUTIH (*LATES CALCARIFER*, BLOCH): SKRINING MEDIA DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER

Margie Brite^{1,2}, Gregorius Nugroho Susanto^{1,3}, Agus Setyawan⁴, Mahfut³, Y.
Adiputra⁴, Julinasari Dewi⁵, Verli Dharmawati²

¹Program Doktor MIPA, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung

²Pusat Riset Mikrobiologi Terapan, Badan Riset dan Inovasi Nasional

³Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung

⁴Jurusan Perikanan dan Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung

⁵Balai Besar Perikanan Budid Daya Laut Lampung, Kementerian Kelautan dan Perikanan.

Email Korespondensi: margie.brite@brin.go.id

Abstract

This study aims to identify the type of *Vibrio* pathogenic bacteria that attack white snapper (*Lates calcarifer*, Bloch) through selective media screening and molecular analysis. Fish samples were taken from a cultivation unit in Hurun Bay, Lampung, with clinical symptoms such as frayed fins and reddish skin. Isolation was carried out using TCBS and CHROMagar™ *Vibrio* media, followed by biochemical identification with Oxoid Microbact™ and molecular confirmation using polymerase chain reaction (PCR). The results showed 14 isolates positive for *Vibrio* sp. in the 16S rRNA gene (700 bp). A total of 11 isolates were identified as *Vibrio alginolyticus* through the collagenase gene (737 bp), one isolate as *Vibrio parahaemolyticus* with the ToxR gene (368 bp), and two isolates as *Photobacterium damsela* with the P.dam 5a gene (517 bp). Challenge tests against *P. damsela* showed an LD₅₀ value of 4.46×10^7 CFU/ml per fish and caused mortality of up to 50% within 18 hours post-infection, with clinical symptoms including changes in body color, dorsal lesions, and swelling of internal organs. These results confirm the presence of various pathogenic *Vibrio* species in white snapper and the importance of verification with molecular identification for rapid and accurate diagnosis in controlling vibriosis in marine aquaculture.

Keywords:

Vibriosis,
White snapper,
Media screening,
Molecular identification

Pendahuluan

Indonesia, sebagai negara kepulauan yang memiliki potensi besar di sektor perikanan, menghadapi tantangan besar dalam menjaga keberlanjutan budi daya ikan, terutama pada spesies ikan laut seperti kakap putih (*Lates calcarifer*, Bloch). Budi daya kakap putih telah menjadi salah satu komoditas penting dalam industri perikanan Indonesia, khususnya di daerah pesisir seperti Teluk Hurun, Provinsi Lampung. Namun, keberhasilan budi daya ini tidak terlepas dari masalah kesehatan ikan yang disebabkan oleh patogen, termasuk bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit serius pada ikan budi daya, seperti penyakit vibriosis yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* sp. Keberadaan bakteri patogen dalam lingkungan akuakultur dapat menurunkan kualitas ikan, serta berpotensi mengalami kerugian ekonomi industri perikanan.

Spesies *Vibrio* sp. tersebar luas di lingkungan laut, dan secara signifikan memengaruhi kesehatan ikan dalam akuakultur. Keberadaan mereka sering dikaitkan dengan kondisi lingkungan, terutama fluktuasi suhu, yang dapat meningkatkan patogenisitas pada populasi ikan laut. Penelitian telah menunjukkan bahwa *Vibrio* sp., seperti *Vibrio parahaemolyticus* dan *V. vulnificus*, sering mencemari ikan laut, sehingga menimbulkan risiko kesehatan yang serius (Raissy et al., 2012; Helmi et al., 2020). Bakteri ini merupakan penyebab penyakit vibriosis, yang menimbulkan kerugian ekonomi signifikan pada sektor akuakultur akibat tingginya tingkat mortalitas pada ikan yang terinfeksi. (Sarjito et al., 2022). Penelitian oleh Raharjo et al. (2022) tentang prevalensi bakteri patogen famili *Vibrionaceae* dari 184 sampel kakap putih budi daya di Thailand telah menemukan infeksi *Vibrio harveyi* (30,03 %, *Photobacterium damsela* (12,36 %), dan *V. vulnificus* (10,95 %) dengan gejala akut nekrosis otot dan hilangnya sisik pada ikan. Berbagai metode yang digunakan untuk identifikasi dan deteksi saat ini telah dikembangkan, kajian mengenai penyakit vibriosis pada budi daya ikan laut telah banyak mendapat perhatian. Metode secara konvensional dilakukan melalui metode kultur dan dilanjutkan dengan pemeriksaan karakteristik fisiologis dan biokimia. Metode ini membutuhkan waktu yang lebih lama (Takemura et al. 2014). Saat ini dikembangkan metode identifikasi berbasis molekuler yang lebih cepat dengan tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Identifikasi molekuler bakteri patogen menggunakan teknik PCR dan analisis genetik lainnya memungkinkan deteksi spesifik terhadap patogen yang mungkin tidak terdeteksi dengan metode konvensional (Barzamini et al., 2014; Kim et al., 2015), dengan menggunakan primer spesifik, bakteri patogen seperti *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus*, dan *Vibrio vulnificus* dapat diidentifikasi secara lebih akurat dan cepat. Hal ini memberikan dasar yang kuat untuk langkah-langkah pencegahan yang lebih terarah, termasuk dalam pengembangan terapi yang lebih spesifik untuk mengatasi infeksi bakteri pada ikan.

Metode Penelitian

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel, dari kakap putih yang terserang penyakit dengan isolasi dari organ limpa dan ginjal pada media selektif *Vibrio*, *Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose* (TCBS), Merck. Koloni tunggal yang tumbuh di media media selektif *Vibrio* (TCBS) telah teridentifikasi secara biokimiawi dengan presumtif identifikasi sebagai *V. alginolyticus*, dan *Aeromonas* sp. berdasarkan kit komersial Oxoid Microbact™. Total sampel sebanyak 14 isolat dimurnikan dan diperbanyak pada media umum *Tryptic Soy Agar* (TSA) dengan 2 % *Sodium Chloride*.

Ekstraksi DNA

Sampel isolat bakteri yang telah dikultur diekstraksi DNA-nya menggunakan Lysis Buffer Kit (IQ2000™) sesuai dengan prosedur standar. Tahapan ekstraksi dimulai dengan menyiapkan microtube berisi 500 µL PBS, kemudian dimasukkan biakan bakteri ke dalam microtube 1,5 mL dan disentrifugasi pada kecepatan 12.000×g selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk dibuang, lalu ditambahkan 500 µL Lysis Buffer ke dalam microtube tersebut. Sampel digerus dan dihomogenkan menggunakan pellet pestle, kemudian diinkubasi pada suhu 95°C selama 10 menit sambil sesekali divortex. Setelah itu, sampel disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.000×g selama 10 menit. Sebanyak 200 µL supernatan hasil sentrifugasi dipindahkan ke microtube baru yang berisi 400 µL etanol 95%, kemudian divortex hingga homogen. Campuran disentrifugasi kembali pada 12.000×g selama 10 menit, supernatan dibuang, dan pelet dikeringkan hingga tidak ada sisa cairan. Selanjutnya, ditambahkan 30–50 µL DEPC.ddH₂O untuk melarutkan DNA. Produk DNA kemudian disimpan pada suhu -20°C hingga digunakan untuk analisis lebih lanjut.

Amplifikasi

Total DNA yang diperoleh selanjutnya diamplifikasi pada gen penyandi *Vibrio* sp. 16S rRNA

menggunakan pasangan primer F (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3') dan R (5'-GCATCTGAGTGTCAGTATCTGTCC-3') sebagaimana dilaporkan oleh Marchesi et al. (1998) dalam Montieri et al. (2010). Amplifikasi spesifik untuk *Vibrio alginolyticus* dilakukan dengan primer gen collagenase F (5'-CGAGTACAGTCACTTGAAAGCC-3') dan R (5'-CACAACAGAAGTTCGCGTTACC-3') (Di Pinto et al., 2005). Untuk *Vibrio parahaemolyticus*, digunakan primer gen ToxR F (5'-GTCTTCTGACGCAATCGTTG-3') dan R (5'-ATACGAGTGGTTGCTGTCATG-3') (Kim et al., 1999; Nelapati dan Krishnaiah, 2010; Abdelaziz et al., 2017). Sementara itu, identifikasi *Photobacterium damsela* dilakukan menggunakan primer P.dam-5a F (5'-CAACCCTGCAACATTTCTACCAAG-3') dan R (5'-GGAGTGCATGCCGAACAAGC-3') sebagaimana dijelaskan oleh Zapulli et al. (2005). Reaksi amplifikasi PCR dilakukan menggunakan MyTaq HS Red Mix (BIO-25047, Bioline, UK) dengan volume total 25 μ L yang terdiri atas 2 μ L DNA templat, 12,5 μ L MyTaq HS Red Mix, 8,5 μ L nuclease-free water, serta masing-masing 1 μ L primer forward dan reverse.

Profil PCR untuk masing-masing spesies *Vibrio* dilakukan dengan kondisi termal yang berbeda sesuai target gen. Amplifikasi *Vibrio* sp. gen 16S rRNA, reaksi diawali dengan denaturasi awal pada suhu 95°C selama 10 menit, diikuti oleh 30 siklus yang terdiri atas denaturasi pada 95°C selama 1 menit, annealing pada 55°C selama 1 menit, dan ekstensi pada 72°C selama 1,5 menit. Reaksi diakhiri dengan ekstensi akhir pada 72°C selama 5 menit.

Amplifikasi untuk *V. alginolyticus* gen collagenase dilakukan dengan denaturasi awal pada 95°C selama 15 menit, kemudian 35 siklus yang meliputi denaturasi pada 94°C selama 30 detik, annealing pada 57°C selama 30 detik, dan ekstensi pada 72°C selama 1 menit, serta diakhiri dengan ekstensi akhir pada 72°C selama 5 menit. Sementara itu, amplifikasi *V. parahaemolyticus* gen ToxR untuk menggunakan denaturasi awal pada 94°C selama 10 menit, diikuti 20 siklus dengan denaturasi pada 94°C selama 1 menit, annealing pada 63°C selama 1,5 menit, dan ekstensi pada 72°C selama 1,5 menit. Proses diakhiri dengan ekstensi akhir pada 72°C selama 10 menit. *Photobacterium damsela*, amplifikasi menggunakan primer P.dam-5a dilakukan dengan denaturasi awal pada 94°C selama 2 menit, diikuti 30 siklus yang terdiri atas denaturasi pada 94°C selama 45 detik, annealing pada 55°C selama 45 detik, dan ekstensi pada 72°C selama 1 menit.

Elektroforesis

Proses visualisasi gel dengan melihat pada deteksi berat molekul band DNA sampel yang muncul dibandingkan dengan DNA marker (*molekul weight ladder*). Pendeteksian dilakukan dengan perbandingan basepair (bp) kemunculan *band* target dengan lane marker 100 bp yang muncul yaitu pada posisi 2000, 1000, 750, 500, 250 dan 100bp. Deteksi positif *Vibrio* sp. 16S rRNA pada 700 bp, *V. alginolyticus* menggunakan primer gen collagenase pada 737 bp, *V. parahaemolyticus* menggunakan primer ToxR pada 368 bp, dan *P. damsela* menggunakan primer P.dam 5a pada 517 bp.

Uji Tantang

Uji tantang dilakukan menggunakan bakteri patogen *Photobacterium damsela* dengan dosis infeksi yang telah ditentukan mampu menyebabkan kematian pada 50% populasi ikan uji (Lethal Dose 50 atau LD₅₀), yaitu sebesar $4,46 \times 10^7$ CFU/mL per ekor kakap putih.

Hasil dan Pembahasan

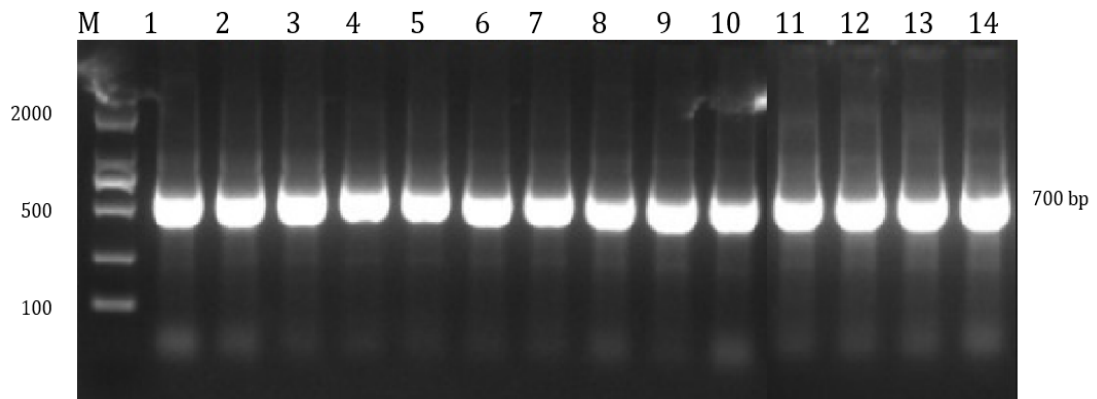
Kakap putih diambil dari karamba jaring apung (KJA) yang berlokasi di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung serta lokasi budi daya di wilayah perairan Teluk Hurun. Pengambilan sampel dilakukan secara purposif (tidak acak) berdasarkan pengamatan gejala klinis pada ikan, antara lain sirip yang geripis dan permukaan kulit yang tampak kemerahan. Jumlah ikan yang diamati sebanyak 10 ekor dengan variasi ukuran tubuh yang berbeda.

Tabel 1. Hasil isolasi dan identifikasi

Sampel	Isolasi bakteri			Presumsi Identifikasi secara biokimia	Identifikasi PCR
	Organ	Koloni pada TCBS	Koloni pada CHROMagar™ Vibrio		
1	Ginjal	Kuning besar	Putih	<i>V. alginolyticus</i>	<i>P. damsela</i>
2	Ginjal	Hijau kecil	Putih	<i>Aeromonas sp.</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>
3	Hati	Kuning besar	Putih	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. alginolyticus</i>
4	Limpa	Kuning besar	Putih	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. alginolyticus</i>
5	Limpa	Kuning	Putih	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. alginolyticus</i>
6	Ginjal	Kuning besar	Putih	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. alginolyticus</i>
7	Limpa	Kuning	Putih	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. alginolyticus</i>
8	Ginjal	Kuning besar	Putih	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. alginolyticus</i>
9	Limpa	Kuning	Putih	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. alginolyticus</i>
10	Ginjal	Hijau kecil	Putih	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. alginolyticus</i>
11	Hati	Kuning besar	Putih	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. alginolyticus</i>
12	Ginjal	Hijau besar	Putih	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. alginolyticus</i>
13	Ginjal	Kuning besar	Putih	<i>Aeromonas sp.</i>	<i>P. damsela</i>
14	Hati	Hijau	Putih	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. alginolyticus</i>

Isolat bakteri yang diduga patogen diperoleh dari organ hati, limpa, dan ginjal ikan yang ditumbuhkan pada media selektif TCBS. Berdasarkan hasil identifikasi presumtif secara biokimia menggunakan Oxoid Microbact™ Kit (Tabel 1), terdeteksi sebanyak 12 isolat *V. alginolyticus* dan 2 isolat *Aeromonas sp.* Menurut Ra et al. (2015), media TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Sucrose) merupakan media selektif yang efektif untuk isolasi spesifik bakteri *Vibrio*, dengan perbedaan warna dan morfologi koloni sebagai indikator identifikasi awal. Koloni *V. alginolyticus* umumnya berwarna hijau kekuningan, *V. parahaemolyticus* berwarna hijau kecil, sedangkan *P. damsela* menghasilkan koloni berwarna kuning terang. Hasil pengamatan morfologi dan uji biokimia menunjukkan kesesuaian paling tinggi dengan profil *V. alginolyticus*. Beberapa isolat dengan karakteristik sedikit berbeda teridentifikasi sebagai *Aeromonas sp.*, kemungkinan disebabkan oleh kemiripan warna koloni pada media TCBS, sehingga diperlukan uji konfirmasi lebih lanjut. Selain itu, meskipun media CHROMagar™ *Vibrio* dirancang untuk menampilkan koloni *V. parahaemolyticus* berwarna ungu (mauve), beberapa isolat dapat membentuk koloni pucat, biru, atau tidak berwarna sama sekali. Penelitian oleh Di Pinto et al. (2010) melaporkan bahwa sekitar 10–15% isolat *V. parahaemolyticus* dari sampel klinis dan lingkungan tidak menunjukkan warna ungu khas, meskipun hasil PCR menegaskan identitas spesies tersebut.

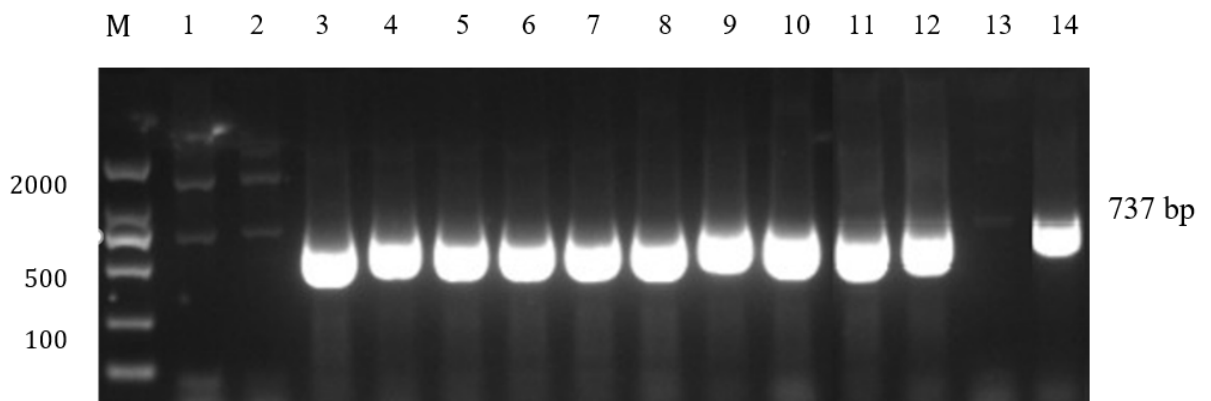
Identifikasi *Vibrio sp.* dapat dilakukan secara molekuler menggunakan primer spesifik pada gen 16S rRNA sebagai penanda universal bakteri. Menurut Marchesi et al. (1998) dalam Montieri et al. (2010), fragmen gen 16S rRNA *Vibrio* memiliki panjang sekitar 700 bp. Dalam penelitian ini, sebanyak 14 isolat yang diperoleh dari media selektif TCBS menunjukkan hasil positif terhadap amplifikasi gen 16S rRNA dengan ukuran pita 700 bp, yang mengonfirmasi keberadaan *Vibrio sp.* (Gambar 1.).



Gambar 1. Deteksi *Vibrio* sp. gen16S rRNA (700 bp) isolat bakteri dari media selektif TCBS (Lane M: marka DNA 100 bp)

Beberapa isolat yang secara biokimia teridentifikasi sebagai *Aeromonas* sp. juga menunjukkan hasil positif pada amplifikasi gen 16S rRNA. Hal ini diduga karena kesamaan sifat fisiologis antara *Aeromonas* sp. dan *Vibrio* sp., di mana keduanya merupakan bakteri batang Gram-negatif, oksidase-positif, anaerob fakultatif, serta mampu memfermentasi glukosa dan sukrosa menghasilkan asam tanpa gas (Janda and Abbott, 2010).

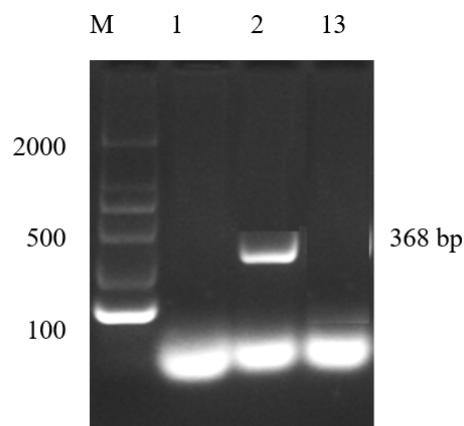
Gen *collagenase* telah terbukti menjadi penanda molekuler yang efektif untuk mengidentifikasi bakteri *Vibrio alginolyticus*, sebagaimana dilaporkan oleh Takeuchi et al. (1992). Hasil analisis dalam penelitian tersebut menunjukkan bahwa komposisi asam amino dari enzim *collagenase* yang telah dimurnikan memiliki kemiripan yang sangat tinggi dengan urutan asam amino yang diprediksi dari sekuens nukleotida gen *collagenase* *V. alginolyticus*. Selain itu, analisis terhadap 20 peptida yang diperoleh secara eksperimental menunjukkan kesamaan identik dengan urutan asam amino hasil deduksi dari gen tersebut. Kesamaan ini menegaskan bahwa gen *collagenase* memiliki tingkat konservasi yang tinggi baik pada level genetik maupun protein, sehingga menjadikannya dasar yang kuat untuk identifikasi molekuler spesifik terhadap *V. alginolyticus*.



Gambar 2. Deteksi *V. alginolyticus* gen Collagenase (737 bp) isolat bakteri dari media selektif TCBS (Lane M: marka DNA 100 bp).

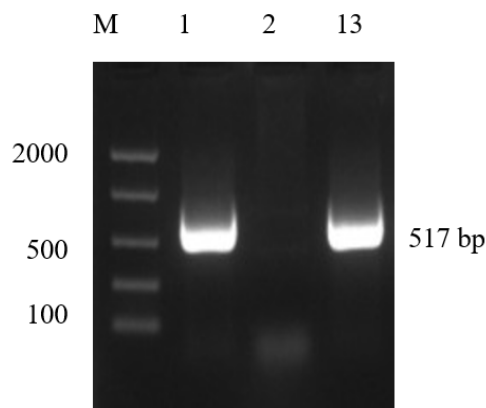
Pendekatan berbasis gen *collagenase* tidak hanya memungkinkan deteksi yang cepat dan spesifik, tetapi juga memperkuat pemahaman mengenai hubungan antara struktur gen dan fungsi enzim pada spesies ini (Takeuchi et al., 1992; Abdelaziz et al., 2017; Di Pinto et al., 2005). Dalam penelitian ini, hasil identifikasi biokimia yang dilakukan menggunakan *Microbact*TM Kit menunjukkan bahwa 12 isolat dikonfirmasi sebagai *V. alginolyticus*, yang selanjutnya terdeteksi positif secara molekuler menggunakan primer gen *collagenase* pada ukuran fragmen 737 bp sebanyak 11 isolat.

Pengujian molekuler menggunakan primer gen *ToxR* secara umum diterapkan untuk identifikasi spesies *Vibrio harveyi* maupun *Vibrio parahaemolyticus*. Namun, menurut Abdelaziz et al. (2017), gen *ToxR* dapat secara spesifik mendeteksi keberadaan *V. parahaemolyticus* secara molekuler, dengan fragmen amplifikasi berukuran sekitar 368 bp. Temuan tersebut menegaskan bahwa gen *ToxR* berperan sebagai penanda genetik yang spesifik dan sensitif dalam identifikasi *V. parahaemolyticus* melalui metode PCR.



Gambar 3. Deteksi *V. parahaemolyticus* gen *ToxR* (368 bp) isolat bakteri dari media selektif TCBS (Lane M: marka DNA 100 bp).

Dalam penelitian ini, hasil amplifikasi molekuler menggunakan primer *ToxR* terhadap isolat 1, 2, dan 13 (Gambar 3) menunjukkan bahwa satu isolat, yaitu isolat 2, terdeteksi positif sebagai *V. parahaemolyticus* berdasarkan gen *ToxR*. Isolat B berasal dari media TCBS dengan morfologi koloni berwarna hijau dan berukuran kecil, sesuai dengan karakteristik morfologi khas *V. parahaemolyticus* (Abdelaziz et al., 2017; Di Pinto et al., 2010)



Gambar 4. Deteksi *P. damsela* gen *P.dam 5a* (368 bp) isolat bakteri dari media selektif TCBS (Lane M: marka DNA 100 bp).

Hasil pengujian molekuler menunjukkan bahwa terdapat dua isolat yang teridentifikasi sebagai *Photobacterium damsela*, yaitu isolat 1 dan 13, yang berasal dari koloni berwarna kuning terang pada media selektif. Secara morfologis, *P. damsela* memiliki karakteristik koloni berwarna kuning pucat, berbentuk bulat tidak beraturan, dengan tepi bergelombang dan elevasi datar. Menurut Nybakken (1992), bakteri ini termasuk dalam kelompok bakteri bioluminesen yang mampu memancarkan cahaya berwarna hijau kebiruan, suatu sifat khas yang umum dijumpai pada genus *Photobacterium* yang hidup di lingkungan laut.

Secara taksonomi, *P. damsela* merupakan bakteri patogen penyebab penyakit *Pasteurellosis* pada ikan laut dan digolongkan dalam kelompok penyakit *Vibriosis* karena memiliki kekerabatan yang erat dengan famili *Vibrionaceae*. Metode PCR yang menargetkan fragmen DNA berukuran 517 bp, telah terbukti efektif sebagai teknik deteksi spesifik terhadap keberadaan *P. damsela* dalam sampel ikan atau lingkungan akuakultur, sebagaimana dilaporkan oleh Zapulli et al. (2005).

Hasil pengujian keragaan toleransi terhadap re-infeksi bakteri *P. damsela* dengan injeksi peritoneal pada dosis LD₅₀ 4.46×10^7 cfu/ml per ekor kakap putih menunjukkan gejala perubahan warna tubuh menjadi abu-abu. Ujiantang tersebut menyebabkan kematian akut (18 jam) sebanyak 50%. Gejala klinis eksternal dari *Vibriosis* biasanya tidak mencolok tanpa adanya lesi hanya beberapa ikan yang terkena yang mungkin menunjukkan penggelapan warna tubuh dan/atau perdarahan ringan daerah di kepala dan insang (Amalina et al., 2019, Manchanayake et al., 2023).

Penelitian Cheung et al. (2021) menyatakan bahwa keganasan menunjukkan tingkat virulensi dan bersifat relatif terhadap waktu dan dosis. Dalam penelitian ini terlihat, pada konsentrasi sel yang sama isolat yang ganas menimbulkan gejala klinis dan kematian dalam waktu yang lebih singkat. Faktor keganasan ini menyebabkan timbulnya kematian dan gejala klinis seperti yang terlihat dalam penelitian ini seperti luka di daerah dorsal dan mulut, warna tubuh gelap, hati pucat dan ginjal bengkak.

Bakteri memiliki faktor patogenesitas berbeda-beda tergantung pada faktor pertahanan inang dalam melawan patogen. Penelitian Murdjani (2002), menyatakan bahwa infeksi *V. alginolyticus* pada ikan Kerapu tikus (ukuran 4-5 cm) menyebabkan kematian pada ikan uji dengan LD₅₀ sebesar $4,5 \times 10^6$ CFU/ikan melalui penyuntikkan *intramuscular*, *intraperitoneal* dan *intravena*.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa kakap putih (*L. calcarifer*, Bloch) di wilayah Teluk Hurun, Lampung, terinfeksi oleh beberapa spesies bakteri patogen dari genus *Vibrio*, yaitu *Vibrio alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, dan *P. damsela*, yang berhasil diidentifikasi melalui kombinasi metode skrining media selektif TCBS dan CHROMagar™ serta konfirmasi molekuler berbasis PCR pada gen target spesifik. Dominasi isolat *V. alginolyticus* menunjukkan bahwa spesies ini merupakan patogen utama pada kasus *vibriosis* kakap putih di daerah tersebut. Ujiantang menggunakan *P. damsela* membuktikan tingkat virulensi tinggi dengan nilai LD₅₀ sebesar $4,46 \times 10^7$ CFU/ml dan menyebabkan kematian 50% populasi ikan dalam waktu 18 jam. Oleh karena itu, deteksi molekuler terbukti efektif sebagai metode cepat dan akurat dalam identifikasi patogen ikan, serta penting untuk mendukung strategi pencegahan dan pengendalian penyakit *vibriosis* di kegiatan budidaya laut.

References

- Abdelaziz, M, Ibrahim, M.D, Ibrahim, M.A., Elala, N.M.A., Moneam, D.A.A. (2017). Monitoring of Different *Vibrio* Species Affecting Marine Fishes in Lake Qarun and Gulf of Suez: Phenotypic and Molecular Characterization. *Journal of Aquatic Research*, 43: 141-146
- Amalina, N. Z., Santha, S., Zulperi, D., Amal, M. N. A., Yusof, M. T., Zamri-Saad, M., & Ina-Salwany, M. Y. (2019). Prevalence, antimicrobial susceptibility, and plasmid profiling of *Vibrio* spp. isolated from cultured groupers in Peninsular Malaysia. *BMC microbiology*, 19(1), 251. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1624-2>
- Barzamini, B., Moghbeli, M., Soleiman, A. N. (2014). *Vibrio cholerae* detection in water and wastewater by polymerase chain reaction assay. *Int J Enteric Pathog.* 2014; 2(4):1-4.
- Cheung, G.Y.C, Bae, J.S., Otto, M. (2021). Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, 12(1):547-569. doi:10.1080/21505594.2021.1878688.
- Di Pinto, A., Ciccurese, G., Tantillo, G., Catalano, D., & Forte, V. T. (2005). A collagenase-targeted multiplex PCR assay for identification of *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio cholerae*, and *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of food protection*, 68(1), 150–153. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-68.1.150>
- Helmi, A.M., Mukti, A.T., Soegianto, A., & Effendi, M.H. (2020). A Review of Vibriosis in Fisheries: Public Health Importance. *Sys Rev Pharm* , 11(8):51-58
- Kim, H. J., Ryu, J. O., Lee, S. Y., Kim, E. S., & Kim, H. Y. (2015). Multiplex PCR for detection of the *Vibrio* genus and five pathogenic *Vibrio* species with primer sets designed using comparative genomics. *BMC microbiology*, 15, 239. <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0577-3>
- Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2010). The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection. *Clinical microbiology reviews*, 23(1): 35–73. <https://doi.org/10.1128/CMR.00039-09>
- Montieri, S., Suffredini, E., Ciccozzi, M., Croci, L. (2010). Phylogenetic and Evolutionary Analysis of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* Isolates Based on ToxR Gene Sequence. *Journal of Microbiologica* 33: 359-372
- Murdjani, M. (2002). Identifikasi dan patologi bakteri *Vibrio alginolyticus* pada ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*). Ringkasan Disertasi. Program Studi Ilmu-ilmu Pertanian Kekhususan Perlindungan Tanaman. Program Pasca Sarjana. Universitas Brawijaya. Malang. 48 p.
- Nelapati, S., & Krishnaiah, N. (2010). Detection of total and pathogenic *V. parahaemolyticus* by polymerase chain reaction using toxR, Tdh, and trh genes. *Veterinary World*, 3(6), 268-271.
- Raissy, M., Moumeni, M., Ansari, M., & Rahimi, E. (2012). Antibiotic resistance pattern of some *Vibrio* strains isolated from seafood. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 11 (3): 618-626.
- Raharjo, H.M., Budiyanah, H., Mursalim, M.F., Chokmangmeepisarn, P., Sakulworakan, R., Madyod, S., Sewaka, M., Sonthi, M., Debnath, P.P., Elayaraja, S., Rung-Ruangkijkrui, T., Dong, H.T. & Rodkhum, C. 2022. Distribution of Vibrionaceae in farmed Asian sea bass, *Lates calcarifer* in Thailand and their high prevalence of antimicrobial resistance. *Journal of Fish Diseases* 45: 1355–1371.
- Sarjito S, Haditomo, A.H.C., Prayitno, S.B., Sabdaningsih, A, Desrina, & Ariyati, R.W. (2022). Molecular characterization of vibriosis associated bacteria from traditional mud-crab farmed in the North Coast of Central Java, Indonesia.
- Takemura, A.F., Chien, D.M., Polz, M.F. (2014). Associations and dynamics of Vibrionaceae in the environment, from the genus to the population level. *Frontiers in Microbiology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00038>.

- Manchanayake, T., Salleh, A., Amal, M.N.A., Yasin, I.S.M., Zamri-Saad, M. (2023). Pathology and pathogenesis of *Vibrio* infection in fish: A review. *Aquaculture Reports* 23. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101459>.
- Takeuchi, H., Shibano, Y., Morihara, K., Fukushima, J., Inami, S., Keil, B., Gilles, A.M., Kawamoto, S., Okuda, K. (1992). Structural gene and complete amino acid sequence of *Vibrio alginolyticus* collagenase. *Biochem J.* 3:703-8. doi: 10.1042/bj2810703.
- Zappulli, V., Patarnello, T., Patarnello, P., Frassinetti, F., Franch, R., Manfrin, A., Castagnaro, M., & Bargelloni, L. (2005). Direct identification of *Photobacterium damsela* subspecies *piscicida* by PCR-RFLP analysis. *Diseases of aquatic organisms*, 65(1), 53–61. <https://doi.org/10.3354/dao065053>