**Pengendalian Vibriosis Pada Ikan Bawal Bintang (*Trachinotus blocii* Lacepede, 1801) dengan Pemberian Vaksin *Vibrio* Bivalen *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio vulnificus* Secara Injeksi**

**Nindya Leonita Ananda\*, Esti Harpeni\*\*, Andrian Garbono\*\*\***

\* Program Studi Budidaya Perairan, Universitas Lampung

\*\* Program Studi Ilmu Kelautan, Universitas Lampung

\*\*\* Balai Besar Perikanan Budidaya Laut, Lampung

**ABSTRAK**

Vaksinasi merupakan upaya yang dilakukan untuk menanggulangi penyakit ikan sebagai salah satu cara untuk mengurangi pemberian antibiotik. Vaksinasi yang diberikan berupa vaksin *Vibrio* bivalen karena ikan bawal bintang merupakan salah satu ikan air laut yang sering terserang bakteri *Vibrio* sp. Pemberian vaksinasi yang dilakukan secara injeksi dapat meningkatkan respon imun secara cepat karena langsung terserap dan diedarkan ke seluruh organ tubuh ikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian vaksin *Vibrio* bivalen *V. parhaemolyticus* dan *V. vulnificus* untuk meningkatkan respon imun ikan bawal bintang. Ikan bawal bintang yang digunakan berukuran 8-10 cm dengan kepadatan 25 ekor/bak dan terdapat tiga perlakuan yaitu kontrol, vaksinasi 108 CFU/ml, dan vaksinasi 109 CFU/ml. Parameter respon imun yang diamati meliputi total leukosit, aktivitas fagositosis, indeks fagositosis, titer antibodi, waktu gejala klinis mulai terlihat, tingkat kelangsungan hidup, *relatif percent survival, mean time to death,* dan kualitas air sebagai faktor penunjang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa parameter respon imun baik non spesifik maupun spesifik ikan bawal bintang dapat meningkat secara signifikan dengan pemberian vaksinasi *Vibrio* bivalen dengan kepadatan 108 CFU/ml.

**Kata kunci :** *bawal bintang,**vaksin Vibrio bivalen, injeksi, respon imun*

**Pendahuluan**

Penyakit merupakan salah satu hal yang paling berbahaya di dunia perikanan. Hal ini dapat terjadi dan menyerang komoditas perikanan karena adanya interaksi antara inang, patogen, dan lingkungan. Ketiganya akan menimbulkan dampak yang negatif bila dalam kondisi yang kurang optimal (Chatterjee & Haldar, 2012). Dampak negatif ini dapat menyerang komoditas perikanan dan dapat mengganggu kegiatan budidaya sehingga menurunkan tingkat produksi ikan tersebut.

Komoditas perikanan yang sering terserang penyakit yaitu ikan air laut, salah satunya ikan bawal bintang. Penyakit yang sering menyerang ikan tersebut berasal dari mikroorganisme patogen seperti bakteri (Adam & Thompson, 2006). Bakteri yang banyak ditemukan menginfeksi ikan air laut yaitu *Vibrio* sp. diantaranya *V. harveyi, V. parahaemolyticus, V. alginolyticus,*dan *V. vulnificus.* Bakteri ini dapat menimbulkan penyakit vibriosis yang menyebabkan ikan mengalami kematian pada berbagai stadia (Krishnika & Ramasamy, 2014). Ikan yang telah terinfeksi *Vibrio* sp. akan mengalami penurunan kesehatan ikan bahkan sampai mengalami kematian yang pada akhirnya akan menurunkan kualitas dan kuantitas produk budidaya yang dihasilkan.

Ikan yang telah terserang penyakit dapat dilakukan dengan cara pemberian antibiotik. Namun, pemberian antibiotik memberikan dampak negatif bagi ikan dan manusia. Soeripto (2002) mengatakan bahwa penggunaan antibiotik dapat menimbulkan residu di dalam tubuh ikan, menimbulkan resistensi bakteri, menyebabkan terjadinya pencemaran lingkungan, dan bahkan menjadi salah satu penolakan ekspor dari negara lain. Hal tersebut dapat merugikan sektor perikanan yang selanjutnya harus dilakukan pencegahan sehingga produksi perikanan tidak mengalami penurunan.

Salah satu hal yang dapat dijadikan solusi untuk mengurangi penggunaan antibiotik yaitu pemberian vaksinasi. Cara ini baik dilakukan karena tidak menimbulkan dampak negatif bagi ikan, manusia, maupun lingkungan dan dapat diberikan secara injeksi agar dapat terserap seluruhnya di dalam tubuh. Pemberian vaksinasi pada ikan dapat meningkatkan respon imun sehingga ikan tidak mudah terserang penyakit (Setiawan, 2012). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian vaksin *Vibrio* bivalen secara injeksi untuk pengendalian vibriosis pada ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*).

**Metode**

**Rancangan Penelitian**

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dua perlakuan dan satu kontrrol dengan tiga kali ulangan. Ikan uji yang digunakan adalah ikan bawal bintang dengan ukuran 8-10 cm sebanyak 25 ekor setiap wadah percobaan dengan ukuran 60x40x40 cm3. Pemberian vaksin *Vibrio* bivalen dilakukan secara injeksi sebanyak 0,1 ml/ekor ikan. Rancangan percobaan pemberian vaksin mengacu pada Desrina *et al*. (2011) yaitu:

K (+) :tanpa pemberian vaksin dan dilakukan uji tantang

A :vaksin *Vibrio* bivalen dengan kepadatan 108 CFU/ml dan diuji tantang

B :vaksin *Vibrio* bivalen dengan kepadatan 109 CFU/ml dan diuji tantang

**Tahap Persiapan**

**Sterilisasi Alat dan Bahan**

Alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121oC dengan tekanan 1 atm selama 15 menit untuk membebaskan dari mikroorganisme kontaminan.

**Persiapan Wadah dan Ikan Uji**

Persiapan wadah dilakukan dengan membersihkan bak, aerasi, dan pengisian air. Sedangkan ikan uji dimasukkan ke dalam wadah sebanyak 25 ekor/bak setelah air diendapakan selama 24 jam dan ikan diaklimatisasi selama 7 hari.

**Pembuatan Vaksin Inaktif *Vibrio* Bivalen**

Pembuatan vaksin inaktif *Vibrio bivalen* dilakukan dengan mengacu pada Setyawan *et al*. (2012) dengan modifikasi bakteri yang digunakan yaitu *V. parahaemolyticus* dan *V. vulnificus*. Vaksin tersebut diuji viabilitas pada media TSA untuk memastikan bakteri tidak tumbuh dan dihitung kepadatan vaksin menggunakan spektrofotometer.

**Tahap Pelaksanaan**

**Pemeliharaan Ikan dan Pemberian Vaksin**

Ikan bawal bintang dipelihara dengan diberi pakan menggunakan pelet komersil sebanyak 2x sehari pada pukul 08.00 dan 14.00 WIB serta dilakukan penyiponan. Setelah ikan diaklimatisasi selama tujuh hari, dilakukan pemberian vaksinasi pertama secara injeksi sebanyak 0,1 ml/ekor dengan dosis yang telah ditentukan. Kemudian vaksinasi kedua dilakukan dua minggu setelah vaksinasi pertama dengan metode yang sama pada saat vaksinasi pertama.

**LD50**

LD50 dilakukan untuk mengetahui dosis yang akan digunakan pada saat uji tantang. Masing-masing akuarium disiapkan dan diisi ikan sebanyak 10 ekor untuk pemberian *V. parahaemolyticus* dan *V. vulnificus* dengan perlakuan yang berbeda yaitu PBS, 1x109, 5x108, 1x108, dan 5x107 CFU/ml. Ikan yang telah diberi bakteri kemudian diamati hingga mencapai kematian 50%.

**Uji Tantang**

Uji tantang dilakukan setelah dua minggu pemberian vaksin kedua. Uji ini dilakukan secara injeksi dengan dosis yang telah diperoleh dari hasil LD50.

**Tahap Pengamatan**

**Total Leukosit**

Pengamatan total leukosit dilakukan dengan menggunakan organ berupa limpa dan ginjal anterior. Kedua organ dihaluskan di atas larutan HBSS (*Hanks’ Balanced Salts*) dan disaring menggunakan saringan nilon 100 nm. Kemudian sampel disentrifugasi percoll dengan kecepatan 500 g selama 40 menit pada suhu 4oC. Sel leukosit diambil pada bagian tengah percoll dan dicuci menggunakan HBSS sebanyak 3x dengan sentrifugasi 3000 rpm selama 10 menit dengan suhu 4oC. Sel leukosit yang telah dicuci dimasukkan ke dalam tube dan ditambahkan HBSS lalu disentrifugasi kembali dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dengan suhu 4oC. Supernatan dibuang dan ditambahkan L-15 medium sebanyak 1 ml. Kemudian sel leukosit diamati menggunakan *haemocytometer* di bawah mikroskop dengan perhitungan pada empat kotak besar.

N = Rata-rata jumlah sel x x Pengenceran sel/mm3

**Aktivitas dan Indeks Fagositosis**

Pengamatan aktivitas dan indeks fagositosis mengacu pada Qomariyah *et al*. (2017) dengan modifikasi yaitu suspensi leukosit yang diperoleh diletakkan pada gelas objek sebanyak 200 µl dan didamkan selama 90 menit pada laminar air flow. Kemudian, ditambahkan latex beads sebanyak 200 µl di atas lapisan leukosit dan diamkan selama 30 menit. Gelas objek dicuci dengan 1 ml larutan HBSS dan difiksasi dengan metanol 200 µl selama 5 menit yang dilanjutkan dengan pencucian menggunakan ddH2O. Setelah itu, dilakukan pewarnaan Giemsa dan diamkan selama 40 menit. Sampel yang telah diberi pewarnaan dicuci dengan air ddH2O mengalir dan didiamkan hingga kering, kemudian sampel diamati dibawah mikroskop sebanyak 200 sel. Aktivitas dan indeks fagositosis dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

%

**Titer Antibodi**

Pengamatan titer antibodi dilakukan setelah ikan diuji tantang yang mengacu pada Bahar *et al*. (2017). Serum ikan diperoleh dari daging ikan yang digerus dalam PBS-Tween dengan perbandingan 1:4. Daging yang telah digerus kemudian disentrifuse dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit. Lapisan kedua hasil sentrifuse diambil sebagai serum untuk pengamatan titer antibodi dan dipanaskan pada suhu 47oC selama 30 menit. Sampel tersebut diuji menggunakan metode mikroaglutinasi yang mengacu pada Agustin (2012).

**Gejala Klinis**

Pengamatan ini dilakukan setelah ikan diuji tantang dengan melihat waktu awal gejala klinis mulai muncul. Gejala ini dideskripsikan sesuai dengan yang diamati pada awal gejala muncul hingga menjelang kematian.

**TKH, RPS, dan MTD**

Parameter ini diamati setelah ikan diuji tantang selama tujuh hari dengan perhitungan mengacu pada Nitimulyo *et al*. (2005):

Keterangan:

TKH : tingkat kelangsungan hidup (%)

Nt : jumlah ikan hidup pada akhir pemeliharaan (ekor)

No : jumlah ikan pada awal pemeliharaan (ekor)

RPS : *relative percent survival* (%)

MTD : *mean time to death* (jam)

a : waktu kematian (jam)

b : jumlah ikan yang mati (ekor)

**Kualitas Air**

Parameter kualitas air yang diamati adalah oksigen terlarut, pH, suhu, dan salinitas. Pengamatan dilakukan pada awal, tengah, dan akhir penelitian.

**Hasil dan Pembahasan**

**Total Leukosit**

Total leukosit ikan bawal bintang mengalami peningkatan yang signifikan setelah dilakukan vaksinasi. Total leukosit tersebut mencapai hasil tertinggi yaitu 11,4x106 sel/mm3 pada perlakuan A (108 CFU/ml) dan 8,1x 106 sel/mm3 pada perlakuan B (109 CFU/ml) setelah dilakukan vaksinasi kedua. Peningkatan tersebut menunjukkan adanya respon positif terhadap vaksin yang diberikan ke dalam tubuh ikan. Tingginya total leukosit pada ikan akan memberikan pertahanan non spesifik yang lebih baik dengan mengeliminasi patogen yang akan menyerang tubuh ikan (Aunollah *et al*., 2013). Selain itu, ikan bawal bintang juga mengalami peningkatan total leukosit setelah dilakukan uji tantang. Ikan yang diuji tantang menggunakan bakteri *V. parahaemolyticus* mengalami peningkatan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ikan yang diuji tantang menggunakan *V. vulnificus* (Gambar 1).

Keterangan: Vp (*Vibrio parahaemolyticus*)

Vv (*Vibrio vulnificus*)

Gambar 1. Total leukosit (x106 sel/mm3) ikan bawal bintang

Berdasarkan hasil yang diperoleh, total leukosit ikan bawal bintang berada di atas kisaran normal yang menunjukkan adanya respon pertahanan tubuh ikan dari serangan patogen. Hal ini sesuai dengan pernyataan Puteri *et al*. (2016) yang mengatakan bahwa kisaran normal total leukosit ikan bawal adalah 4,50-7,00 x 104 sel/mm3. Hasil tersebut juga menunjukkan bahwa pemberian vaksin *Vibrio* bivalen yang dapat meningkatkan total leukosit ikan bawal bintang secara signifikan yaitu kepadatan 108 CFU/ml.

Terjadinya peningkatan total leukosit sebagai akibat dari adanya infeksi pada ikan. Sehingga pada saat vaksin diinjeksikan ke dalam tubuh, ikan akan mengenali antigen dan memacu terjadinya peningkatan total leukosit ikan. Vaksin yang diberikan melalui injeksi akan berlangsung lebih cepat karena dapat terserap oleh darah secara menyeluruh di dalam tubuh dan diedarkan ke seluruh organ sehingga pembetukan kekebalan tubuh juga berlangsung lebih cepat (Setiawan, 2012).

**Aktivitas dan Indeks Fagositosis**

Peningkatan aktivitas fagositosis selaras dengan peningkatan total leukosit ikan bawal bintang. Aktivitas fagositosis pada setiap kegiatan mengalami peningkatan sebesar 30-35% pada perlakuan A dengan nilai tertinggi 95,5% dan 15-25% pada perlakuan B dengan nilai tertinggi 90,5% serta meningkat signifikan terhadap ikan kontrol. Sedangkan setelah diuji tantang, pada kedua perlakuan menunjukkan hasil yang lebih tinggi pada ikan yang diuji *V. parahaemolyticus* dibandingkan dengan ikan yang diuji tantang menggunakan *V. vulnificus* (Gambar 2).

Keterangan: Vp (*Vibrio parahaemolyticus*)

Vv (*Vibrio vulnificus*)

Gambar 2. Aktivitas fagositosis (%) ikan bawal bintang

Aktivitas fagositosis ikan pada penelitian ini mengalami peningkatan secara signifikan. Hal ini selaras dengan penelitian Johnny & Roza (2004) yang mengatakan bahwa pemberian vaksin secara injeksi dapat meningkatkan kekebalan tubuh yang berdampak pada peningkatan aktivitas fagositosis lebih dari 10%. Peningkatan ini akan terjadi pada awal infeksi yang dilakukan oleh sel-sel fagosit. Mekanisme kerja yang terjadi di dalam tubuh yaitu sel fagosit mendekati mikroorganisme patogen yang masuk, kemudian memakan dan membunuh serta mencerna mikroorganisme tersebut. Hal ini menyebabkan ikan yang telah divaksinasi akan memiliki respon imun non spesifik yang lebih tinggi dibandingkan ikan yang tidak vaksinasi (Wintoko *et al*., 2013).

Selain itu, parameter efektivitas suatu vaksin dapat dilihat dari indeks fagositosis. Indeks fagositosis pada ikan akan meningkat setelah adanya suatu bahan yang dimasukkan ke dalam tubuh ikan yaitu vaksin dan menjadi salah satu pemicu terjadinya peningkatan pada respon imun non spesifik ikan (Panigrahi *et al*., 2005). Pada penelitian ini, indeks fagositosis ikan bawal bintang yang telah divaksinasi mengalami peningkatan secara signifikan dibandingkan dengan ikan kontrol, namun tidak berbeda nyata antar perlakuan. Pada uji tantang, ikan yang diinfeksi menggunakan *V. vulnificus*  menunjukkan hasil yang lebih rendah dibandingkan *V. parahaemolyticus*. Selain itu, perlakuan A pada masing-masing uji tantang menunjukkan hasil yang lebih tinggi dari perlakuan B didukung dengan data statistik (p<0,05) yang menunjukkan adanya pengaruh signifikan pada perlakuan A (Gambar 3).

Keterangan : Vp (*Vibrio parahaemolyticus*)

Vv (*Vibrio vulnificus*)

Gambar 3. Indeks fagositosis ikan bawal bintang

Pada uji tantang *V. parahaemolyticus*, perlakuan B mengalami sedikit penurunan terhadap ikan kontrol. Penurunan indeks fagositosis dapat terjadi karena sebagian sel di dalam tubuh ikan digunakan untuk pertahanan diri dan tidak terdiferensiasi secara sempurna karena telah digunakan pada saat uji tantang (Taukid *et al*., 2010). Sedangkan peningkatan indeks fagositosis terjadi karena proses fagositosis di dalam tubuh terjadi secara cepat dan dapat berkontribusi dengan baik dalam penyajian antigen yang juga menunjukkan adanya peningkatan kekebalan tubuh ikan (Qomariyah *et al*., 2017).

**Titer Antibodi**

Titer antibodi pada semua perlakuan yang divaksinasi menggunakan *Vibrio bivalen* menunjukkan hasil positif dan lebih tinggi dibandingkan monovalen yang ditandai dengan terbentuknya reaksi aglutinasi. Sedangkan pada perlakuan kontrol tidak menunjukkan adanya pembentukan antibodi (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil uji titer antibodi ikan setelah uji tantang

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Ikan Uji | Perlakuan | Pengenceran | | | | | | | | | | |
| 10⁰ | 10¹ | 10² | 10³ | 10⁴ | 10⁵ | 10⁶ | 10⁷ | 10⁸ | 10⁹ | 10¹⁰ |
| Vp (K) | Vb 10⁸ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vb 10⁹ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vv 10⁸ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vv 10⁹ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vp 10⁸ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vp 10⁹ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vp (A) | Vb 10⁸ | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Vb 10⁹ | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - |
| Vv 10⁸ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vv 10⁹ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vp 10⁸ | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vp 10⁹ | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vp (B) | Vb 10⁸ | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - |
| Vb 10⁹ | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - |
| Vv 10⁸ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vv 10⁹ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vp 10⁸ | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - |
| Vp 10⁹ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vv (K) | Vb 10⁸ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vb 10⁹ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vv 10⁸ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vv 10⁹ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vp 10⁸ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vp 10⁹ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vv (A) | Vb 10⁸ | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - |
| Vb 10⁹ | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - |
| Vv 10⁸ | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vv 10⁹ | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vp 10⁸ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vp 10⁹ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vv (B) | Vb 10⁸ | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - |
| Vb 10⁹ | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - |
| Vv 10⁸ | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vv 10⁹ | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vp 10⁸ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vp 10⁹ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Keterangan : ( + ) Ada reaksi aglutinasi (pembentukan antibodi)

( - ) Tidak ada reaksi aglutinasi (tidak terbentuk antibodi)

(Vb) *Vibrio* bivalen

(Vp) *Vibrio parahaemolyticus*

(Vv) *Vibrio vulnificus*

Pada masing-masing ikan yang diuji tantang menunjukkan hasil positif pada vaksin yang sesuai dengan bakterinya. Keduanya menunjukkan hasil yang lebih tinggi pada perlakuan 108 CFU/ml dibandingkan dengan 109 CFU/ml. Hal ini sesuai dengan pernyataan Olga *et al*. (2007) bahwa dosis vaksin yang terlalu tinggi dapat menghambat munculnya respon imun ikan atau vaksin dapat bersifat immunosupresif. Semakin tinggi dosis vaksin yang diberikan tidak berbanding lurus dengan meningkatnya respon imun spesifik ikan. Dosis tersebut juga dapat menghambat respon imun spesifik ikan yang diharapkan karena melebihi batas kemampuan ikan.

Peningkatan titer antibodi yang menunjukkan respon positif ditandai dengan terbentuknya reaksi aglutinasi hingga pengenceran 1010, sedangkan respon negatif ditandai dengan pembentukan reaksi aglutinasi dibawah pengenceran 102 (Hadie *et al*., 2010). Peningkatan tersebut dapat terjadi karena ikan terpapar antigen yang sama pada saat diuji tantang dan akan memproduksi lebih banyak antibodi. Semakin banyak antibodi yang dihasilkan maka respon imun semakin baik dan akan membantu tubuh dalam mengeliminasi patogen sehingga dapat menekan kematian ikan (Qomariyah *et al*., 2017).

**Tingkat Kelangsungan Hidup (TKH)**

Tingkat kelangsungan hidup ikan bawal bintang yang telah divaksinasi dan diuji tantang menunjukkan pengaruh yang signifikan dibandingkan ikan kontrol. Kelangsungan hidup tertinggi terdapat pada perlakuan A baik yang diuji tantang menggunakan *V. parahaemolyticus* maupun *V. vulnificus* yaitu >80%, perlakuan B >60%, dan terendah pada ikan kontrol yaitu <30% (Gambar 4). Tingkat kelangsungan hidup ikan bawal bintang yang divaksinasi termasuk dalam tingkatan yang efektif. Hal ini selaras dengan pernyataan Sukmawati & Suprapto (2010) bahwa vaksinasi dikatakan efektif dan berhasil jika memiliki tingkat kelangsungan hidup lebih dari 60%.

Gambar 4. Tingkat kelangsungan hidup (%)

Tingkat kelangsungan hidup merupakan salah satu parameter sebagai pengaruh pemberian vaksinasi terhadap ikan. Kristanto (2013) mengatakan bahwa ikan yang divaksinasi akan memiliki tingkat kelangsungan hidup yang lebih tinggi dibandingkan ikan yang tidak divaksinasi. Hal tersebut terjadi karena ikan yang divaksinasi akan memproduksi jumlah antibodi yang lebih banyak di dalam tubuh ikan, sehingga kekebalan tubuh yang dimiliki lebih tinggi. Antibodi tersebut terbentuk karena adanya interaksi antigen dengan sel leukosut yang ada di dalam tubuh ikan. Hal ini didukung oleh pernyataan Bahar *et al*. (2017) bahwa peranan antibodi yang baik dalam melawan serangan patogen yang masuk dalam tubuh akan meningkatkan kelangsungan hidup ikan.

***Relative Percent Survival* (RPS)**

Efektivitas suatu vaksin dapat dilihat dari tingkat perlindungan relatif yang dihasilkan setelah ikan diuji tantang. Pada perlakuan A diperoleh hasil >75% dari ikan yang diuji tantang menggunakan *V. parahaemolyticus* dan *V. vulnificus*. Sedangkan pada perlakuan B diperoleh hasil yang lebih rendah yaitu <60% (Gambar 5).

Gambar 5. *Relative percent survival*

Berdasarkan hasil yang diperoleh, tingkat perlindungan relatif yang paling baik ditunjukkan pada perlakuan A yaitu vaksin dengan kepadatan 108 CFU/ml. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Desrina *et al*. (2011) yang mengatakan bahwa vaksin dapat dikatakan efektif apabila tingkat perlindungan relatif dari suatu ikan >70%. Tinggi rendahnya nilai ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya yaitu sistem kekebalan tubuh ikan. Nilai ini berbanding lurus terhadap sistem imun ikan. Apabila sistem kekebalan tubuh ikan meningkat, maka tingkat perlindungan relatif ikan akan tinggi dan apabila sistem kekebalan tubuh ikan menurun maka tingkat perlindungan relatif ikan juga akan rendah.

***Mean Time to Death* (MTD)**

Kematian kumulatif ikan yang diuji tantang menggunakan *V. parahaemolyticus* (Gambar 6) dan *V. vulnificus* (Gambar 7) terjadi pada jam ke 10-30 pasca infeksi. Pada perlakuan kontrol rerata waktu kematian ikan dibawah 20 jam pada kedua bakteri. Pada perlakuan A dan B ikan yang diuji tantang menggunakan *V. parahaemolyticus* memiliki waktu kematian diatas 20 jam, sedangkan ikan yang diuji tantang menggunakan *V. vulnificus* menunjukkan waktu kematian dibawah 20 jam (Gambar 8).

Gambar 6. Kematian kumulatif ikan yang Gambar 7. Kematian kumulatif ikan yang

diinfeksi *V. parahaemolyticus* diinfeksi *V. vulnificus*

Gambar 8. *Mean time to death* ikan bawal bintang pasca uji tantang

Berdasarkan hasil tersebut, ikan yang diuji tantang menggunakan *V. vulnificus* menunjukkan waktu kematian yang lebih cepat dibandingkan ikan yang diuji tantang dengan *V. parahaemolyticus* baik pada perlakuan A, B, maupun kontrol. Nitimulyo *et al*. (2005) menyatakan bahwa vaksinasi yang diberikan pada ikan mampu menunda waktu kematian ikan yang diinfeksi bakteri *Vibrio* karena sebelumnya telah terpapar bakteri yang sama dengan bakteri uji tantang. Hal ini juga berbanding lurus dengan tingkat kelangsungan hidup dan tingkat perlindungan relatif pada ikan bawal bintang.

**Gejala Klinis**

Ikan bawal bintang yang telah diuji tantang menggunakan bakteri *V. parahaemolyticus* dan *V. vulnificus* menunjukkan gejala klinis dengan waktu yang berbeda (Tabel 2).

Tabel 2. Waktu gejala klinis ikan bawal bintang pasca uji tantang

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Perlakuan | | Kematian ikan (%) | MTD (jam) | Waktu gejala klinis mulai terlihat (jam) |
| Vp | K (Kontrol) | 80 | 17,03 | 12 |
| A (10⁸ CFU/ml) | 20 | 22,33 | 22 |
| B (10⁹ CFU/ml) | 30 | 23,17 | 17 |
| Vv | K (Kontrol) | 90 | 14,06 | 2 |
| A (10⁸ CFU/ml) | 20 | 15 | 15 |
| B (10⁹ CFU/ml) | 30 | 20 | 15 |

Keterangan : Vp : *V. parahaemolyticus*

Vv : *V. vulnificus*

Secara umum ikan bawal bintang yang diuji tantang menggunakan bakteri *V. parahaemolyticus* dan *V. vulnificus* menunjukkan gejala klinis awal yang sama yaitu adanya penurunan nafsu makan dan bergerak lebih lambat. Namun, waktu gejala klinis mulai terlihat berbeda diantara keduanya. Ikan yang diuji tantang *V. vulnificus* menunjukkan gejala klinis yang lebih cepat dibandingkan dengan ikan yang diuji tantang menggunakan *V. parahaemolyticus*. Sedangkan menjelang waktu kematian, ikan bawal bintang menunjukkan gejala klinis yang lebih parah yaitu insang yang pucat, terdapat lendir berlebih, berenang tidak beraturan, dan terjadi perubahan pada permukaan tubuh.

Sugianto *et al*. (2017) mengatakan bahwa bakteri *V. parahemolyticus* dan *V. vulnificus* merupakan jenis bakteri yang menyebabkan kematian pada ikan air laut. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Nitimulyo *et al.* (2005) bahwa bakteri *V. vulnificus* memiliki tingkat keganasan yang lebih tinggi sehingga menyebabkan lebih banyak kematian pada ikan yang terserang bakteri tersebut, sedangkan *V. parahaemolyticus* juga bisa mengakibatkan kematian pada ikan, tetapi lebih banyak menyerang pada udang.

**Kualitas Air**

Kualitas air merupakan salah satu komponen penting yang berpengaruh dalam pertumbuhan dan kesehatan ikan. Pada penelitian ini, kualitas air ikan bawal bintang selama pemeliharaan masih dalam kisaran yang optimum yaitu dengan oksigen terlarut yaitu >4 ppm, pH 7,5-7,6, suhu 26-28oC, dan salinitas 33-35 ppt (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil pengukuran parameter kualitas air

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Parameter | Perlakuan | | | Standar |
| K | A | B |
| DO (ppm) | 4,7-6,6 | 4,3-5,6 | 4,9-6,2 | >4 |
| pH | 7,5-7,6 | 7,5-7,6 | 7,5-7,6 | 7-8,5 |
| Suhu (⁰C) | 26-28 | 26-28 | 26-28 | 28-32 |
| Salinitas (ppt) | 33-35 | 34-35 | 34-35 | 30-35 |

Hal ini menjadi penting karena merupakan media hidup ikan sehingga perlu dijaga sesuai dengan kondisi optimum ikan agar penyakit tidak mudah menyerang ikan yang dibudidayakan. Kualitas air yang kurang optimal akan mengganggu pertumbuhan ikan, ikan menjadi stres, dan akan mempermudah serangan patogen masuk dan mengganggu kesehatan ikan (Wintoko *et al.,* 2013).

**Kesimpulan**

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini yaitu vaksinasi *Vibrio* bivalen 108 CFU/ml secara signifikan dapat meningkatkan total leukosit, aktivitas fagositosis, indeks fagositosis, titer antibodi, tingkat kelangsungan hidup, *relative percent survival*, dan *mean time to death*.

**Daftar Pustaka**

Adams, A., & Thompson, K. D. (2006). Biotechnology offers revolution to fish health management. *Trends in Biotechnology*, *24*(5), 201-202.

Agustin, D. (2012). Pengaruh perbedaan dosis aplikasi probiotik terhadap respon imun non spesifik ikan mas (*Cyprinus carpio*) dengan uji tantang bakteri *Aeromonas salmonicida*. *Skripsi*. Universitas Lampung.

Aonullah, A.A., Slamet B.P., & Sarjito. (2013). Pengaruh penggunaan ekstrak daun jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap kelulushidupan ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscogutattus*) yang diinfeksi *Vibrio alginolyticus. Journal of Aquaculture Management and Technology, 2*(1), 126-135.

Bahar, S. I., Harpeni, E. & Effendi, E. (2017). Respon imun spesifik larva ikan mas (*Cyprinus carpio*) melalui imunitas maternal yang diberi vaksin inaktif *whole cell* (*Aeromonas salmonicida*). *Biospecies*, *10*(1), 37-43.

Chatterjee, S., & Haldar, S. (2012). *Vibrio* related diseases in aquaculture and development of rapid and accurate identification methods. *Journal Marine Science Res Dev*, *3*(1), 1-7.

Desrina, T., Taslihan, A., Ambriyanto, & Jati, B. K. (2011). Pengaruh dosis terhadap efektivitas vaksin POM *Vibrio alginolyticus* 74 kda pada ikan kerapu macan *Epinephelus fuscoguttatus*. *Indonesian Journal of Marine Sciences, 16*(2), 95-102.

Hadie, W., Angela, L. M., Sularto, & Evi, T. (2010). Imunitas maternal terhadap *Aeromonas hydrophila* pengaruhnya terhadap fekunditas dan daya tetas ikan patin siam (*Pangasionodon hypothalamus*). *Jurnal Riset Akuakultur*, *5*(2), 229-235.

Johnny, F., & Roza, D. (2004). Pengaruh penyuntikan imunostimulan peptidoglikan terhadap peningkatan tanggap kebal non-spesifik ikan kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus. Jurnal Aquaculture Indonesia, 5*(2), 109-105.

Krishnika, A., & Ramasamy, P. (2014). *Legenidium* sp. infection in the larval stages of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (DeMan). *Indian Journal of Fisherie*, *61*(2), 110-118.

Kristanto, R. B. (2013). Respon imun dan tingkat kelulushidupan benih ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) yang divaksin secara oral dengan mikrokapsul *formalin killed cell* (FKC) bakteri *Vibrio alginolyticus* menggunakan alginat terhadap infeksi *Vibrio alginolyticus*. *Doctoral Dissertation*. Universitas Airlangga.

Nitimulyo, K. H., Isnansetyo, A., Triyanto, Istiqomah, I., & Murdjani, M. (2005). Isolasi, identifikasi dan karakterisasi *Vibrio* spp. patogen penyebab vibriosis pada kerapu di Balai Budidaya Air Payau Situbondo. *Jurnal Perikanan, 8*(2), 80-94.

Nitimulyo, K. H., Isnansetyo, A., Triyanto, Murdjani, M., & Sholichah, L. (2005). Efektivitas vaksin polivalen untuk pengendalian vibriosis pada kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*). *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, *7*(1), 95-100.

Olga, Rini, R. K., Akbar, J., Isnansetyo, A., & Sembiring, L. (2007). Protein *Aeromonas hydrophila* sebagai vaksin untuk pengendalian MAS (*Motile Aeromonas septicemia*) pada jambal siam (*Pangasius hypothalamus*). *Jurnal Perikanan, 9*(1), 17-25.

Panigrahi, A., Kiron, V., Puangkaew, Kobayashi, T., Satoh, & Sugita, H. (2005). The viability of probiotic bacteria as a faktor influencing the immune response in rainbor trout *Oncorhynchus mykiss. Aquaculture, 243*, 241-254.

Puteri, A. T. E. D., Jusadi, D., & Nuryati, S. (2016). Respon pertumbuhan dan fisiologis ikan bawal *Colossoma macropomum* yang diberi pakan mengandung minyak cengkeh dosis tinggi. *Jurnal Akuakultur Indonesia, 15*(1), 70-87.

Qomariyah, N., Suprapto, H., & Sudarno. (2017). Pemberian vaksin formalin killed cell (FKC) *Vibrio alginolitycus* untuk meningkatkan *survival rate* (SR), titer antibodi dan fagositosis leukosit pada kerapu cantang (*Epinephelus* sp.) setelah uji tantang bakteri *Vibrio alginolitycus*. Jurnal *Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, *9*(1), 15-24.

Setiawan, R. B. (2012). Efektivitas vaksin dari bakteri mycobacterium fortuitum yang diinaktivasi dengan pemanasan untuk pencegahan penyakit Mycobacteriosis pada ikn gurami (*Osphronemus gouramy*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan, 3*(1), 2-3.

Setyawan, A., Hudaidah, S., Ronapati, Z. Z., & Sumino, S. (2012). Imunogenisitas vaksin inaktif whole cell *Aeromonas salmonicida* pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Aquasains*, *1*(1), 17-22.

Soeripto. (2002). Pendekatan konsep kesehatan hewan melalui vaksinasi. *Jurnal Litbang Pertanian*, *21*(2), 49-52.

Sugianto, S., Masfiah, I., Fairwandari, I., & Hidayati, S. N. (2017). Identifikasi bakteri pada ikan air laut di Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan hasil perikanan kelas I Ngurah Rai Denpasar, Bali. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, *6*(3), 135-140.

Sukmawati, T. D., & Suprapto, H. (2010). Efektivitas penggunaan whole cell dari *Vibrio alginolyticus* sebagai vaksin oral melalui artemia pada benih ikan kerapu tikus (*Chromileptes altivelis*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan, 2*(2), 114-115.

Wintoko, F., Setyawan, A., Hudaidah S., & Ali, M. (2013). Imunogenitas heat killed vaksin inaktif *Aeromonas salmonicida* pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). *e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, *2*(1), 205-210.