



IMUNOGENISITAS *HEAT KILLED* VAKSIN INAKTIF *Aeromonas salmonicida* PADA IKAN MAS (*Cyprinus carpio*)

Fredi Wintoko*, Agus Setyawan^{†‡}, Siti Hudaidah[†] dan Mahrus Ali[†]

ABSTRAK

Aeromonas salmonicida merupakan bakteri penyebab penyakit *furunculosis* dan *carp erythrodermatitis*. Saat ini sudah dikembangkan vaksin inaktif *A. salmonicida* dengan formalin yang memiliki imunogenisitas yang cukup tinggi. Vaksin inaktif dengan metode lain perlu dilakukan, salah satunya inaktivasi dengan pemanasan (*heat killed*). Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui imunogenisitas *heat killed* vaksin *A. salmonicida* pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Oktober sampai Desember 2012, di Laboratorium Budidaya Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian ini dilakukan dengan membandingkan antara pemberian vaksin dan tanpa pemberian vaksin. Bakteri *A. salmonicida* diinaktifasi dengan pemanasan pada suhu 100°C selama 1 jam. Uji viabilitas dilakukan pada media GSP (*Glutamat Starch Pseudomonas*) untuk memastikan bakteri sudah inaktif. Konsentrasi vaksin diukur dengan spektrofotometer ($\lambda=625$ nm) dan dibandingkan dengan standar Mc Farland. Vaksinasi dilakukan dua tahap secara injeksi intraperitoneal, vaksinasi I dilakukan dengan konsentrasi 10^7 sel/ikan dengan volume 0,1 ml/ikan. Vaksinasi II dilakukan 8 hari setelahnya dengan konsentrasi yang sama. Pengambilan darah untuk pengamatan hematologi dilakukan sebelum vaksin, 7 hari setelah vaksinasi I, 7 hari setelah vaksinasi II. Ikan yang divaksinasi menunjukkan adanya peningkatan imunogenisitas yang ditandai dengan peningkatan nilai titer antibodi, total leukosit, dan korelasi negatif antara total leukosit dengan hematokrit.

Kata kunci: *Aeromonas salmonicida*, vaksin, titer antibodi, total leukosit, hematokrit.

Pendahuluan

Bakteri *Aeromonas salmonicida* merupakan jenis bakteri *Aeromonas* sp., yang diindikasikan mampu menyerang semua spesies ikan baik air tawar

maupun air laut. Bakteri ini mampu menginfeksi spesies ikan air tawar golongan *cyprinid* misalnya ikan mas (*Cyprinus carpio*) dan penyakit yang ditimbulkan yaitu *carp erythrodermatitis*

* Mahasiswa Jurusan Budidaya Perairan Universitas Lampung

[†] Dosen Jurusan Budidaya Perairan Universitas Lampung

[‡] Alamat Korespondensi: agus.setyawan[at]fp.unila.ac.id

(Irianto, 2005). Dampak negatif serangan bakteri *A. salmonicida* terhadap sistem budidaya mengakibatkan menurunnya status kesehatan ikan sampai menyebabkan kematian. Kualitas dan kuantitas produk budidaya akan menurun serta berimbas kepada menurunnya produksi serta kerugian secara ekonomi.

Pengendalian penyakit *carp erythrodermatitis* memerlukan pencegahan penyakit yang aman, baik bagi ikan, manusia dan lingkungan, salah satunya dengan penggunaan vaksin. Vaksinasi menjadi cara yang paling efektif untuk pencegahan penyakit. Keberhasilan vaksinasi pada ikan dapat dibuktikan pada tahun 1993 di Norwegia, vaksin *A. salmonicida* yang digunakan mampu menurunkan wabah penyakit furunculosis dan penggunaan antibiotik yang semula mencapai puluhan ton per tahun menjadi hanya beberapa ratus kilogram saja (Soeripto, 2002).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa vaksin *A. salmonicida* yang diinaktivasi menggunakan 1% formalin memiliki imunogenesitas yang cukup tinggi pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang ditunjukkan dengan reaksi titer antibodi mencapai 2^7 (Setyawan dkk., 2012). Belum diketahui imonogenisitas vaksin inaktif *A. salmonicida* dengan pemanasan (*heat killed*) pada ikan mas yang diperoleh dengan cara bakteri diinaktifasi melalui pemanasan air sampai 100°C. Bakteri yang diinaktifasi dengan pemanasan hanya mengandung polisakarida (karbohidrat) karena saat pemanasan bagian lipid terhidrolisis yang disebut sebagai antigen O *A. salmonicida*. Antigen O merupakan penyusun senyawa lipopolisakarida yang mampu memunculkan respon kekebalan pada hewan. Beberapa

penelitian menunjukkan adanya peningkatan imunogenisitas vaksin yang diinaktivasi dengan pemanasan antara lain vaksin *Streptococcus* sp. pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) (Purwaningsih dan Tauhid, 2010), vaksin *Ichthyophthirius multifiliis* pada ikan jambal siam (*Pangasius sutchi*) (Syawal dan Siregar, 2010), dan vaksin *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) (Kamiso dkk., 1997). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian imunogenisitas *heat killed* vaksin inaktif *A. salmonicida* pada ikan mas.

Bahan dan Metode

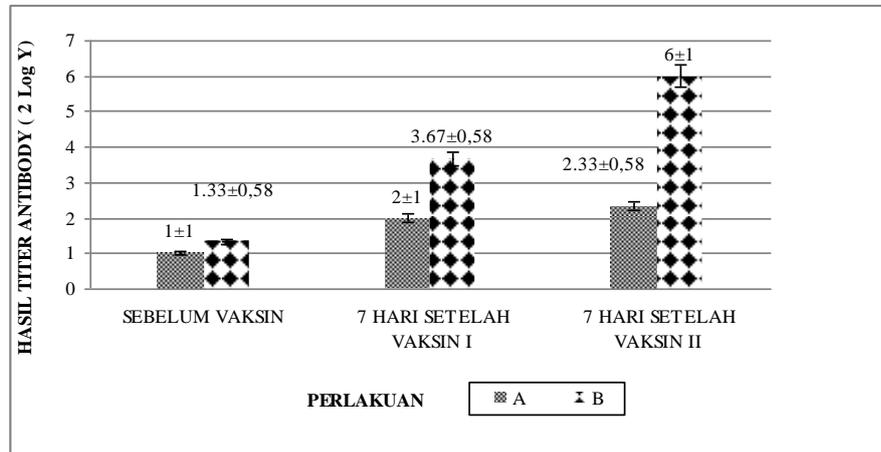
Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober-Desember 2012 di Laboratorium Budidaya Perikanan, Universitas Lampung. Penelitian dilakukan dengan dua perlakuan, yakni kontrol (tanpa vaksin) dan perlakuan pemberian vaksin. Semua perlakuan dilakukan tiga kali ulangan. Parameter yang diamati meliputi: titer antibodi, jumlah total leukosit, nilai hematokrit, dan kualitas air meliputi suhu, pH, dan oksigen terlarut. Akuarium berukuran 60 x 40 x 40 cm sebanyak 6 buah dan ikan mas dengan berat ± 30 gram (10 ekor/ akuarium) digunakan dalam penelitian ini. Pengaruh perlakuan terhadap parameter pengamatan dianalisis dengan menggunakan t-tes dengan signifikansi 95%.

Hasil dan Pembahasan

Hasil uji titer antibodi (Ab) menunjukkan bahwa ikan yang divaksinasi dengan antigen O *A. salmonicida* memiliki respon imun adaptif yang lebih tinggi dibanding ikan yang tidak divaksinasi. Nilai rata-rata titer antibodi tertinggi setelah vaksinasi ke-2 sebesar 6, dan 2,33 pada ikan yang tidak divaksinasi

(dan Gambar 1). Hasil t-tes pada selang kepercayaan 95% menunjukkan bahwa vaksin antigen O *A.salmonicida* memberikan pengaruh nyata terhadap titer antibodi. Hal ini menunjukkan

vaksin antigen O *A. salmonicida* yang diinduksi ke dalam tubuh ikan melalui injeksi mampu membentuk dan meningkatkan produksi antibodi pada ikan uji.



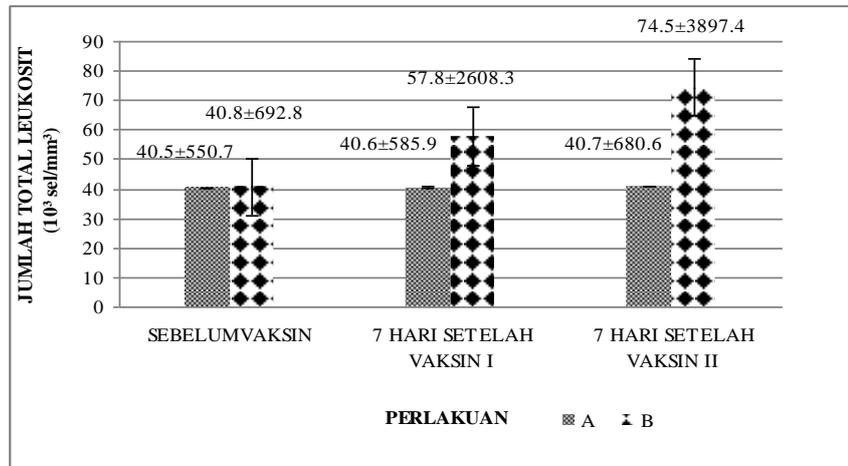
Gambar 1. Nilai Rata-rata Titer Antibodi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Sebelum Vaksinasi, Satu Minggu Setelah Vaksinasi I, satu Minggu Setelah Vaksinasi II.

Figure 1. The mean value of antibody titer of common carp before vaccination, one week after the vaccination I, one week after the vaccination II.

Antibodi merupakan hasil respon dari sistem imunitas berupa pertahanan humoral, berupa protein yang bentuknya menyerupai Y (*roughly Y-shape*) yang digunakan sebagai sistem imun untuk mengidentifikasi, menetralisasi dan membunuh benda asing ataupun patogen seperti bakteri dan virus (Thomas, 2004).

Total leukosit yang meningkat pada ikan yang divaksinasi menunjukkan bahwa vaksin yang masuk ke dalam tubuh ikan memberikan efek positif terhadap peningkatan jumlah total leukosit dalam darah. Nilai rata-rata tertinggi setelah vaksinasi ke-2 sebesar $74,5 \times 10^3$ sel/mm³ pada ikan yang divaksinasi, dan $40,7 \times 10^3$ sel/mm³ pada ikan yang tidak divaksin (Gambar 2). Hasil t-tes pada selang kepercayaan 95% menunjukkan bahwa vaksin

antigen O *A. salmonicida* memberikan pengaruh nyata terhadap total leukosit. Peningkatan total leukosit mengindikasikan adanya respon perlawanan tubuh terhadap antigen penyebab penyakit (Alamanda dkk., 2007). Meningkatnya total leukosit memperlihatkan peningkatan kekebalan tubuh yang ditandai dengan peningkatan aktifitas sel fagosit yang berfungsi untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh ikan. Fagositosis merupakan langkah awal untuk mekanisme respon imunitas, berikutnya adalah terbentuknya respon spesifik yang berupa antibodi, sedangkan peningkatan proses fagositosis ini menunjukkan adanya peningkatan kekebalan tubuh (Zainun, 2007).

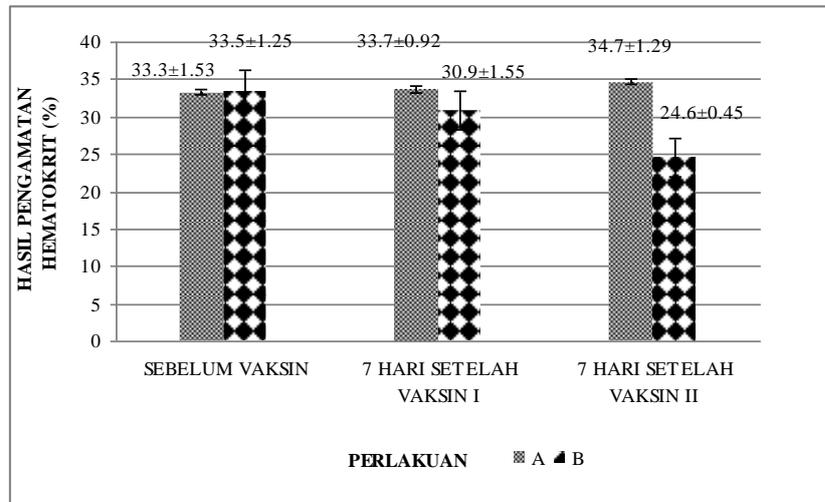


Gambar 2. Nilai Rata-rata Total Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Sebelum Vaksin, Satu Minggu Setelah Vaksinasi I, Satu Minggu Setelah Vaksinasi II.

Figure 2. The mean value of leucosite before vaccination I, one week after the vaccination II.

Persentase rata-rata nilai hematokrit pada ikan yang divaksinasi sebesar 24,6% setelah vaksinasi ke-2, namun pada ikan yang tidak divaksin sebesar 34,7% (Gambar 3). Hasil t-tes pada selang kepercayaan 95% menunjukkan bahwa vaksin antigen O *A. salmonicida* memberikan pengaruh nyata terhadap persentase nilai hematokrit. Penurunan nilai hematokrit pada ikan yang divaksinasi menunjukkan adanya perubahan fisiologis akibat vaksinasi dalam tubuh ikan. Menurunnya kadar hematokrit dapat dijadikan indikator bahwa vaksin yang diberikan pada ikan memiliki hubungan korelasi positif dalam peningkatan total leukosit pada tubuh ikan. Dalam hal ini peningkatan total leukosit akibat pemberian vaksin, secara tidak langsung dapat

meningkatkan respon imun alami yang ditandai dengan peningkatan sel fagosit berupa monosit dan limfosit. Sel-sel fagosit tersebut memiliki hubungan korelasi terhadap uji titer antibodi yang telah dilakukan, yaitu sel fagosit berfungsi sebagai pengenalan antigen atau vaksin yang diberikan pada tubuh ikan. Dengan demikian sel fagosit yaitu limfosit dapat mengenali antigen, dan dapat merangsang sel memori, dan sel B untuk menghasilkan antibodi, yang peningkatannya terlihat pada reaksi aglutinasi dengan uji titer antibodi. Antibodi tidak saja meningkatkan pertahanan humoral tetapi juga pertahanan seluler sehingga hasil kerja masing-masing maupun hasil kerja antara pertahanan humoral dan seluler meningkat (Soeripto, 2002).



Gambar 3. Nilai Rata-rata Persentase Hematokrit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Sebelum Vaksin, Satu Minggu Setelah Vaksinasi I, Satu Minggu Setelah Vaksinasi II.

Figure 3. The mean of the percentage hematocrit profile of the common carp before the vaccination, one week after the vaccination I, one week after the vaccination II.

Parameter kualitas air pada media ikan penelitian masih sesuai dengan kebutuhan optimum pada kehidupan ikan mas, dengan rata-rata oksigen terlarut 5,2–6,8 ppm, suhu air berkisar 25–27 °C, pH air berkisar 7,0–7,5. Hal ini sesuai dengan kisaran parameter

kualitas air yang dinyatakan (Cholik dkk., 2005) yaitu pada pagi dan sore hari kualitas air yang dibutuhkan untuk oksigen terlarut lebih dari tiga, suhu 25–30 °C, dan pH 7–8.

Tabel 4. Parameter Kualitas Air Dalam Penelitian Yang Dibandingkan Dengan Literature.

Table 4. (The Parameter quality of the water in the research compared with the literature)

Perlakuan	Parameter					
	Pagi			Sore		
	DO (ppm)	Suhu (°C)	pH	DO (ppm)	Suhu (°C)	pH
A : Kontrol	5.5	25 – 27	7.3	5.2	25 – 27	7.0
B : Vaksin	6.8	25 – 26	7.2	6.5	25 – 27	7.5
Baku Mutu *)	> 3	25 – 30	7 – 8	> 3	25 – 30	7 – 8

*) Cholik, 2005.

Penelitian ini menguatkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kamiso dkk., (1997); Purwaningsih dan Tauhid (2010); Syawal dan Siregar, (2010), bahwa vaksin yang diinaktivasi

dengan *heat killed* untuk pencegahan penyakit pada ikan yang disebabkan bakteri, mampu menstimulasi kekebalan pada tubuh ikan sehingga

dapat meningkatkan imonogenisitas pada ikan.

Daftar Pustaka

- Alamanda, I.E., Handajani, N.S., dan Budiharjo, A. 2007. Penggunaan Metode Hematologi dan Pengamatan Endoparasit Darah untuk Penetapan Kesehatan Ikan Lele Dombo (*Clarias gariepinus*) di Kolam Budidaya Desa Mangkubumen Boyolali. FMIPA Universitas Sebelas Maret. Surakarta. Hal: 34-38.
- Cholik, F., Jagatraya, A.G., Poernomo, R.P., dan Jauzi, A. 2005. *Akuakultur*. Masyarakat Perikanan Nusantara. Taman Akuarium Air Tawar. Jakarta. 415 hlm.
- Irianto, A. 2005. *Patologi Ikan Teleostei*. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 256 hlm.
- Kamiso, H. N, Triyanto dan Hartati, S. 1997. Uji Antigenisitas dan Efikasi Vaksin *Aeromonas hydrophila* pada Lele Dumbo. *Jurnal Perikanan* 1(2): 9-16.
- Purwaningsih, U, dan Taukhid 2010. Vaksin Anti *Streptococcus* spp. Inaktivasi melalui *Heat Killed* untuk Pencegahan Penyakit *Streptococcosis* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Prosiding: Forum Inovasi Teknologi Akuakultur. Balai Riset Perikanan Air Tawar. Sempur. Bogor. Hal. 901-904.
- Setyawan, A., Hudaidah, S., Ranopati, Z.,Z., dan Sumino. 2012. Imunogenisitas Vaksin Inaktif Whole Cell *Aeromonas salmonicida* pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Aquasains* 1(1): 17-21.
- Soeripto. 2002. Pendekatan Konsep Kesehatan Hewan melalui Vaksinasi. *Litbang Pertanian*, 21(2): 48-55.
- Syawal, H dan Siregar, Y.I. 2010. Imunisasi Ikan Jambal Siam dengan Vaksin *Ichthyophthirius multifiliis*. *FPIK* 11 (3): 163-167.
- Thomas, P. 2004. *Bacteria and Viruses*. Lucent Library of Science and Technology. USA. p 225-230.
- Zainun, Z. 2007. Pengamatan Parameter Hematologis pada Ikan Mas yang Diberi Immunostimulan. Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar, Sukabumi. Hal: 45-49