

**EFEKTIFITAS VAKSIN INAKTIF *Aeromonas salmonicida*
TERHADAP IKAN MAS *Cyprinus carpio***

**EFFECTIVENESS OF INACTIVE VACCINE *Aeromonas salmonicida*
ON COMMON CARP *Cyprinus carpio***

Huriyatul Fitriyah Noor¹, Ciptaning Weargo Jati²
^{1,2}Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung,
Jl. Prof. Dr. Ir. Sumantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung
Email Korespondensi: huriyatul.noor@fp.unila.ac.id

Abstrak - *Aeromonas salmonicida*, merupakan bakteri penyebab ikan menderita pendarahan, lesi otot, radang usus, pembesaran limpa dan menyebabkan kematian pada populasi ikan mas. Penyakit ini sangat merugikan dalam budidaya ikan karena serangannya yang cepat dan dapat mematikan hewan budidaya dan menurunkan tingkat produksi, sehingga ikan yang terserang bakteri cukup parah harus segera dimusnahkan. Berdasarkan hal tersebut diperlukan pendekatan pencegahan yang lebih alami untuk penanggulangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. salmonicida*, salah satunya adalah dengan penggunaan vaksin. Penelitian ini menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian vaksin inaktif *A. salmonicida* dengan dosis A: 10^4 sel/ml; B: 10^6 sel/ml; C: 10^8 sel/ml; D: 10^{10} sel/ml dengan tiga kali ulangan, serta menggunakan dua kontrol pembandingan yaitu kontrol negatif dan kontrol positif. Dengan parameter uji viabilitas, titer antibodi, gejala klinis, RPS (*Relative Percent Survival*) dan kualitas air. Pengujian titer antibodi, gejala klinis, RPS (*Relative Percent Survival*) dan kualitas air dilakukan setelah 1-14 hari dari uji tantang dan pemberian vaksin 1 dan 2 (booster). Penelitian ini menunjukkan peningkatan pada perlakuan C (10^8) berpengaruh paling tinggi dalam mencegah infeksi bakteri patogen *A.salmonicida* ditandai dengan peningkatan titer antibodi tertinggi dengan nilai vaksinasi 1 sebesar 2,107 dan meningkat menjadi 2,408 dengan nilai RPS terbesar 87,46% dan pada gejala klinis ikan mengalami penyembuhan setelah hari ke 8 - 14 setelah infeksi.

Kata Kunci : *Aeromonas salmonicida*, Ikan, Vaksinasi.

Abstract -*Aeromonas salmonicida*, is a bacterium that causes fish to suffer from bleeding, muscle lesions, enteritis, enlarged spleen and causes death in the carp population. This disease is very detrimental in fish farming because of its rapid attack and can kill farmed animals and reduce production rates, so fish attacked by severe bacteria must be destroyed immediately. Based on this, a more natural preventive approach is needed to overcome diseases caused by *A. salmonicida* bacteria, one of which is the use of vaccines. This study used free variables in the form of treatment of administering inactivated vaccine *A. salmonicida* with dose A: 10^4 cells / ml; B: 10^6 cells/ml; C: 10^8 cells/ml; D: 10^{10} cells/ml with three repeats, and using two comparative controls, namely negative control and positive control. With test parameters of viability, antibody titers, clinical symptoms, RPS (*Relative Percent Survival*) and water quality. Testing of antibody titers, clinical symptoms, RPS (*Relative Percent Survival*) and water quality is carried out after 1-14 days of challenge trials and administration of vaccines 1 and 2 (booster). This study showed an increase in treatment C (10^8) had the highest effect in preventing infection with pathogenic bacteria *A.salmonicida* characterized by an increase in the highest antibody titer with a vaccination value of 1 of 2.107 and increased to 2.408 with the largest RPS value of 87.46% and in clinical symptoms fish experienced healing after days 8 - 14 after infection.

Keywords : *Aeromonas salmonicida*, Fish, Vaccination.

I. PENDAHULUAN

A. salmonicida adalah bakteri obligat, yaitu bakteri yang tidak mampu hidup tanpa menempel pada inang dan bersifat tidak motil. Bakteri obligat *A. salmonicida*, merupakan salah satu agen etiologi untuk furunkulosis, yaitu sebuah penyakit yang menyebabkan septikemia, pendarahan, lesi otot, radang usus, pembesaran limpa, yang menyebabkan kematian pada populasi ikan salmonid (Austin and Austin, 2007).

Penyakit ini sangat merugikan dalam budidaya ikan karena serangannya yang cepat dan dapat mematikan hewan budidaya dan menurunkan tingkat produksi, sehingga ikan yang terserang bakteri cukup parah harus segera dimusnahkan (Hazzuli *et al.*, 2015). Berdasarkan hal tersebut diperlukan pendekatan pencegahan yang lebih alami untuk penanggulangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. salmonicida*, salah satunya adalah dengan penggunaan vaksin. Zafran *et al.*, (2006). Vaksinasi diyakini dapat memberikan kekebalan spesifik pada ikan terhadap penyakit tertentu. Kekebalan non-spesifik adalah suatu sistem pertahanan tubuh yang bersifat bawaan (innate immunity) Respon ini meliputi pertahanan mekanik dan kimiawi (mukus, kulit, sisik dan insang) dan pertahanan seluler (sel makrofag, leukosit seperti limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil dan basofil) (Purwaningsih, 2013). Pertahanan pertama yaitu pertahanan fisik meliputi, sisik, kulit, dan mukus. Mukus memiliki kemampuan menghambat kolonisasi mikroorganisma pada kulit, insang dan mukosa. Kerusakan pada sisik atau kulit dapat mempermudah patogen menginfeksi inang (Wintoko *et al.*, 2012).

Pemberian vaksin inaktif *A. salmonicida* diharapkan dapat meningkatkan daya tahan tubuh ikan sehingga meningkatkan proteksi terhadap serangan penyakit tertentu dan meningkatkan mekanisme respon ikan baik seluler maupun humoral (Alifuddin, 2002). Vaksinasi aktif merupakan bentuk dari imunisasi aktif menggunakan stimulasi

antigen untuk meningkatkan respon imun alami dan respon imun perolehan (adaptif) dengan menghasilkan spesifik respon imun humoral dan imunitas antara cell-mediated immunity terhadap patogen dan antigen spesifik (Skinner 2009). Efektivitas vaksinasi yang memadai mampu menurunkan mortalitas ikan tertentu dari serangan penyakit (Roza *et al.*, 2004).

II. METODE PENELITIAN

2.1 Persiapan Ikan Uji

Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) berasal dari kelompok pembudidaya ikan koi di Desa Kemloko, Blitar. Ukuran 8-10 cm dimasukkan ke dalam akuarium. Tiap akuarium diisi ikan sebanyak 10 ekor secara acak. Ikan diaklimatisasi selama tujuh hari sebelum diberi perlakuan untuk memberikan waktu pada ikan beradaptasi dengan lingkungan yang baru.

2.2 Pembuatan Vaksin Inaktif *Aeromonas salmonicida*

Kultur biakan bakteri dalam media TSB sesuai dosis disentrifuse dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk dibuang kemudian ditambahkan kembali PBS proses ini dilakukan sebanyak 3 kali. Setelah didapatkan endapan bakteri yang bersih dari media TSB, endapan bakteri ditambahkan PBS dan diinaktifkan selama 24 jam dengan menggunakan formalin 2%. Bakteri yang telah diformalin diinkubasi pada suhu 25°C selama 72 jam kemudian bakteri dicuci menggunakan PBS sebanyak satu kali dengan cara disentrifus dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit dan disimpan pada suhu 4°C.

2.3 Pemberian Vaksin

Pemberian vaksin dilakukan dengan empat dosis berbeda, yaitu pada perlakuan A: 10^4 sel/ml; B 10^6 sel/ml; C: 10^8 sel/ml; D: 10^{10} sel/ml; dan K: shoulen broth. Pemberian

vaksin dilakukan pada hari ke-1 dan hari ke-8 (booster) dengan cara menyuntikan vaksin di bagian intraperitoneal sesuai dosis masing-masing perlakuan pada ikan koi sebanyak 0,1 mL/ekor. Dalam pemberian vaksin pada ikan budidaya ada berbagai macam vaksin yang dapat digunakan antara lain; vaksin sel utuh, komponen sel, dan vaksin DNA. Pemberian vaksin yang digunakan bergantung pada jenis bakteri, kondisi ikan, dan kondisi lingkungan (Hardi *et al.*, 2013).

2.4 Pengamatan Setelah Uji Tantang

Pengamatan yang dilakukan yaitu pengamatan nilai titer antibody dilakukan pada hari ke 7 dan ke 14 sedangkan pengamatan gejala klinis dan tingkat Relative Percent Survival (RPS) dilakukan selama 14 hari dari setelah uji tantang dan kualitas air selama masa pemeliharaan.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil

3.1.1 Tingkat Kelangsungan Hidup Relatif (Relative Percent Survival/RPS)

Tingkat kelangsungan hidup relatif dari hasil analisis dapat dirincikan melalui tabel berikut.

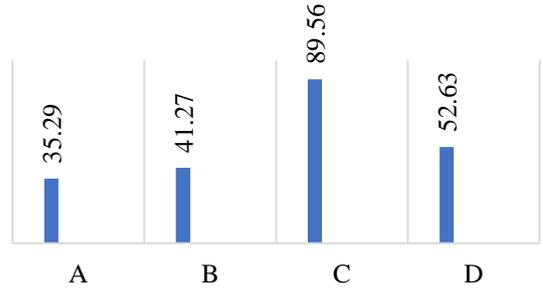
Tabel 1. Nilai (Relative Percent Survival/RPS)

Perlakuan	RPS
A (10^4)	35,29%
B (10^6)	41,27%
C (10^8)	89,56%
D (10^{10})	52,63%

Berdasarkan Tabel 1 penghitungan *Relative Percent Survival* (RPS), pada perlakuan A dengan dosis kepadatan bakteri 10^4 didapat nilai RPS sebesar 35,29%, perlakuan B dengan dosis, dengan dosis kepadatan bakteri 10^6 nilai RPS 41,27%, perlakuan C dosis kepadatan bakteri 10^8

nilai RPS 89,56%, dan perlakuan D dosis kepadatan bakteri 10^{10} nilai RPS 52,63% *Relative percent survival* (RPS) adalah persentase relatif perbandingan antara mortalitas ikan yang divaksin dengan mortalitas ikan kontrol. Pada gambar 3 terlihat perbedaan dosis perlakuan bahwa perbedaan perlakuan vaksin yang diberikan berpengaruh terhadap tingkat kematian yang terjadi.

(Relative present survive/RPS)



Gambar 1. Grafik nilai (Relative Percent Survival/RPS)

Dalam grafik nilai RPS terlihat pada penelitian ini, masih ditemukan ikan yang matiwalaupun telah diberi vaksin tetapi Menurut Grisez and Tan (2005), vaksinasi yang berhasil minimal nilai RPS pada ikan adalah 60 persen. Purwaningsih *et al.*, (2014) sedangkan tingkat kematian pada ikan yang di vaksinasi kurang dari 24%. Berdasarkan hasil tersebut perlakuan C termasuk dalam kisaran lebih dari 60% sehingga layak untuk dijadikan vaksin.

3.1.2 Kualitas Air

Nilai parameter kualitas air selama penelitian dapat terinci pada tabel berikut.

Tabel 2. Nilai parameter kualitas air

Parameter	Hasil Penelitian	Literatur
Suhu	26,5-27 °C	25-30 °C
pH	7,2-8	6,75-8,2
DO	5,3-6 mg/l	>5 (Partosuwiryo dan Warseno, 2011).

Berdasarkan Tabel 3. dapat dilihat kualitas air pada masa pemeliharaan penelitian ini masih dalam kisaran normal. Pengukuran kualitas air penting dilakukan selama masa pemeliharaan Ghufran *et al.*, (2007) menyatakan pada bidang perikanan terutama untuk kegiatan budidaya serta dalam produktifitas hewan akuatik. Parameter kualitas air yang sering diamati antara lain suhu, kecerahan, pH, DO, CO₂, alkalinitas, kesadahan, fosfat, nitrogen dan lainnya. Menurut Firdaus (2004) bahwa pada ikan, suhu lingkungan yang tinggi tetapi masih dalam batas toleransi umumnya akan mempercepat produksi antibodi dan meningkatkan reaksi antibodi yang dihasilkan.

3.2 Pembahasan

Uji viabilitas suspensi bakteri yang telah diinaktivasi bakteri *A. salmonicida* dengan formalin 2% ditambahkan PBS sebanyak volume awal biakan bakteri. Kemudian ditanam dalam media BHIA selama 72 jam jika vaksin *A. salmonicida* sudah inaktif ditandai dengan tidak ada koloni pada medium BHIA. Jika bakteri sudah tidak tumbuh, formalin dicuci menggunakan PBS dengan cara disentrifuse dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. *Sentrifuse* dilakukan sebanyak 3 kali. Kepadatan vaksin inaktif dihitung dengan *spektrofotometer* ($\lambda=625$ nm) mengacu pada standar McFarland.

Pengamatan gejala klinis dilakukan selama masa penginfeksi dan 14 hari setelah ikan di uji tantang karena menurut Skinner (2009), respon imun non spesifik akan mengalami fluktuasi pada sesaat setelah invasi antigen dalam hitungan hari, sedangkan respon imun spesifik akan terbentuk dalam hitungan minggu. Kedua respon imun ini memegang peranan penting dalam mekanisme tanggap kebal dari ikan terhadap serangan patogen. Maftuch (2007) mengatakan bahwa pada proses inflamasi saat terjadi kerusakan jaringan oleh infeksi maupun reaksi antigen-antibodi. Pada gambar 2 terlihat perubahan ikan

normal dan ikan yang di infeksi bakteri *A. salmonicida*.

Pada hari ke 4 setelah uji tantang ikan mengalami gejala klinis seperti warna tubuh memudar, sisik mengelupas dan pembengkakan dan beberapa ikan menunjukkan berenang berputar-putar. Austin dan Austin, (2007) mengemukakan bahwa secara histopatologi bakteri *A. salmonicida* menyebabkan hemoragi dan nekrosis pada organ kulit dan ginjal, degenerasi pada organ kulit dan otot hati serta terjadinya fusi pada lamela kedua dari insang. Ikan yang divaksin dengan menunjukkan gejala yang beragam namun beberapa ikan terlihat kembali normal pada hari ke 8-14 setelah penginfeksi. Perubahan pada gejala klinis ikan yang diinjeksi bakteri lebih cepat muncul. Hardi., *et al* (2013), perubahan pola renang, respons terhadap pakan dan perubahan pada mata dan *clear operculum*. Secara rata-rata muncul 6 jam pascainjeksi dan 12 jam.

Berdasarkan pengamatan *Relative Percent Survival* ikan mas setelah infeksi ditunjukkan pada tabel 2. Tinggi rendahnya nilai RPS pada penelitian ini adalah dosis vaksin. Tingkat kepadatan bakteri yang diinaktivasi pada dosis vaksin berpengaruh besar pada tingkat kesehatan ikan. Ikan diuji tantang dengan *A. salmonicida* pada hari ke 15 kemudian diamati kelangsungan hidupnya selama 14 hari pasca uji tantang.

Kualitas air merupakan faktor penting keberhasilan pemeliharaan ikan dalam penelitian ini. Dalam menjaga kualitas satu caranya adalah dengan menggunakan sistem sirkulasi, mengganti air secara terus-menerus atau melakukan resirkulasi dengan menggunakan filter. Parameter kualitas air dalam akuarium pemeliharaan selama penelitian dapat dilihat pada tabel 2.

IV. KESIMPULAN

Kesimpulan dalam penelitian ini adalah bahwa vaksin inaktif *Aeromonas salmonicida* pada perlakuan C (10^8) berpengaruh paling tinggi dalam mencegah infeksi bakteri patogen *A. salmonicida*

ditandai dengan peningkatan titer antibodi tertinggi dengan nilai vaksinasi 1 sebesar 2,107 dan meningkat menjadi 2,408 dengan nilai RPS terbesar 89,56% dan pada gejala klinis ikan mengalami penyembuhan setelah hari ke 8 - 14 setelah infeksi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, karena atas rahmat dan ridha-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian ini. Dan penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alifuddin, M. 2002. Imunostimulan Pada Hewan Akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 1(2):87-92.
- Austin B., Austin D. A. 2007. *Aeromonadaceae representatives (Aeromonas salmonicida)*. In: *Bacterial Fish Pathogens: Diseases in Farmed and Wild Fish*, 4th Ed. Chichester, UK. Praxis Publishing. Pp: 24 314.
- Firdaus, A. 2004. Pengaruh Pemberian Vitamin C Dalam Percobaan Immunoprolifaksis Terhadap Infeksi Bakteri *Streptococcus iniae* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus Linne*). Program Studi Teknologi Dan Manajemen Akuakultur. Departemen Budidaya Perikanan. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Institut Pertanian Bogor. 47 hal.
- Ghufran, H.M., Kardi, B.T. Andi. 2007. Pengelolaan kualitas Air dalam Budidaya Perairan. Rineka Cipta. Jakarta.
- Grisez, L. and Z. Tan. 2005. Vaccine Development for Asian Aquaculture. *Disease In Asian Aquaculture*, 5 : 483-439
- Hardi, Esti H., Sukenda., Endang H., Angela M. L. 2013. Potential Vaccine Candidate of *Streptococcus agalactiae* for Prevent *Streptococcosis* On Nila Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Veteriner*. 14(4): 408-416.
- Hazzulli, Nurma J., Agus S., Esti H. 2015. Imunogenisitas Kombinasi Vaksin Inaktif Whole Cell *Aeromonas salmonicida* Dan Vitamin C Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. 3(2): 359-365.
- Maftuch, 2007. Paparan Vibrio Alginolyticus Terhadap Histopatologi Usus Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) dan Peningkatan Jumlah Serta Aktivitas Sel Makrofag. *Jurnal Penelitian Perikanan Vol. 10 no.1*. Faperik Unibraw. Hal. 66-70.
- Munasir, Zakiudin. 2001. Respon Imun Terhadap Infeksi Bakteri. *Sari Pediatri*. 2(4): 193-197.
- Partosuwiryo S dan W. Yus. 2011. Kiat Sukses Budi Daya Ikan Mas. Citra Aji Parama. Yogyakarta. 59 hlm.
- Playfair, J.H.L and B.M. Chain. 2009. *At a Glance Imunologi*. Penerbit Erlangga. Jakarta.. 102 hlm.
- Purwaningsih, Uni., Agustin I., dan Angela M. L. 2014. Proteksi Vaksin Monovalen Dan Koktail Sel Utuh Terhadap Ko-Infeksi *Mycobacterium fortuitum* Dan *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Gurame, *Osphronemus gouramy*. *J. Ris. Akuakultur*. 9(2): 283-294.
- Roza, D., Johnny, F., & Tridjoko. 2004. Peningkatan imunitas yuwana ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* terhadap infeksi viral nervous necrosis (VNN). *J. Pen. Perik. Indonesia*, 10(1): 61-70.
- Skinner LA. 2009. The Physiological and Immunological effects of vaccination on fish health, welfare, and performance. The University of British Columbia. 139p.
- Verma, P. S. and V. K. Agarwal. 2005. *Cell Biology, Genetics, Molecular Biology: Evolution and Ecology*. S. Chand and Company Ltd. New Delhi. 126-144 pp

Wintoko, Fredi., Agus, Setyawan., Siti H., Mahrus, Ali. 2013. Imunogenisitas Heat Killed Vaksin Inaktif *Aeromonas salmonicida* Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan. 2(1): 205-210.

Zafran, Roza, D., & Johnny, F. 2006. Produksi dan uji efektivitas imunostimulan dari bakteri dan jamur untuk meningkatkan imunitas benih ikan kerapu. Laporan Penelitian Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Pantai Gondol TA 2006, 12 hlm.