

# **PENGARUH PEMBERIAN VAKSIN WHOLE CELL *Aeromonas hydrophilla* DENGAN DOSIS YANG BERBEDA TERHADAP KELULUSHIDUPAN DAN TOTAL LEUKOSIT IKAN GURAMI (*Osphronemus gouramy*)**

## **Effect of Different Dose Whole Cell *Aeromonas hydrophilla* Vaccine to Survival Rate and Total Leucocyte *Osphronemus gouramy***

Linnya Prima Agustin<sup>1\*</sup>, Rahayu Kusdarwati<sup>2</sup> dan Gunanti Mahasri<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Surabaya

<sup>2</sup>Departemen Manajemen Kesehatan Ikan dan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Surabaya

\*linnyaprima@gmail.com

### **Abstrak**

Budidaya ikan gurami telah menyebar ke seluruh Indonesia, bahkan sentra budidaya ikan gurami tidak hanya di Jawa tetapi juga di luar Jawa. Salah satu kendala dalam budidaya ikan gurami adalah menurunnya jumlah produksi yang disebabkan oleh penyakit bakterial. Salah satu penyebab penyakit pada ikan gurami adalah bakteri *A. hydrophilla*. Penyakit ini dapat menyebabkan wabah pada budidaya ikan air tawar dengan tingkat kematian yang tinggi berkisar 80-100% dalam kurun waktu 1-2 minggu. Pencegahan yang efektif terhadap penyakit tersebut adalah vaksinasi. Vaksinasi dapat meningkatkan kekebalan tubuh ikan terhadap suatu patogen tertentu, sehingga angka kematian dapat ditekan sekecil mungkin. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan dosis vaksin *whole cell A. hydrophilla* terhadap kelulushidupan ikan gurami, total leukosit ikan gurami, dan dosis optimum vaksin. Metode penelitian menggunakan metode eksperimental Rancangan Acak Lengkap dengan enam perlakuan serta tiga ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah perbedaan dosis vaksin A (Kontrol -), B (Kontrol +), C ( $10^5$  sel/ml), D ( $10^6$  sel/ml), E ( $10^7$  sel/ml), dan F ( $10^8$  sel/ml). Parameter utama yang diamati adalah kelulushidupan, total leukosit dan gejala klinis. Parameter pendukung adalah kualitas air pada media pemeliharaan. Perhitungan kelulushidupan dilakukan pada akhir penelitian. Perhitungan total leukosit dilakukan pada hari ke-0, hari ke-7, hari ke-14, dan hari ke-21. Pengamatan gejala klinis dilakukan setelah uji tantang selama satu minggu. Berdasarkan hasil penelitian, perbedaan dosis vaksin berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap kelulushidupan dan total leukosit ikan. Kelulushidupan tertinggi diperoleh pada perlakuan D yaitu 54,17%. Total leukosit tertinggi diperoleh pada perlakuan D ( $20,43 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>). Perlakuan D dengan dosis vaksin  $10^6$  sel/ml memberikan hasil optimum pada kelulushidupan dan total leukosit ikan, meskipun total leukosit antara perlakuan D, E, dan F tidak berbeda nyata tetapi tingkat kelulushidupan ikan tertinggi pada perlakuan D. Gejala klinis ikan kontrol lebih nampak dibandingkan gejala klinis pada ikan yang telah divaksinasi.

Kata Kunci: *O. gouramy*, Vaksin Whole Cell *A. hydrophilla*, Kelulushidupan, Total Leukosit, Gejala Klinis

### **Abstract**

*O. gouramy* cultivation was in Indonesia, moreover central of cultivation not only in Java but non Java. One of cultivation constraint is production decrease caused by bacterial. *A. hydrophilla* cause of *O. gouramy* disease. This disease become an epidemic on 1-2 week in fresh water cultivation with high mortality about 80-100%. Vaccination is more effective measure to prevent bacterial disease. Vaccination can increase immune system on fish body to specific pathogen and suppress mortality. The research to determine different dose whole cell *A. hydrophilla* effect of survival rate, total leucocyte *O. gouramy*, and optimum dose of vaccine. Research method used an experimental test with Completely Randomized Design, six treatment with three replication. There are two control and four different dose, A (control -), B (control +), C ( $10^5$  cell/ml), D ( $10^6$  cell/ml), E ( $10^7$  cell/ml), and F ( $10^8$  cell/ml). Main parameter are survival rate of fish, total leucocyte of fish and clinical sign. Second parameter is water quality of cultivation. Survival rate of fish was calculation after finished. Total leucocyte was calculation in day-0, day-7, day-14, and day-21. Monitoring of clinical sign during 7 days after challenge test. Based on the result of research, different dose of vaccine have significant effect ( $p < 0,05$ ) to survival rate and total leucocyte of fish. The highest of survival rate of fish in treatment D 54,17%. The highest total leucocyte in treatment D ( $20,43 \times 10^3$  cell/mm<sup>3</sup>). Treatment D with dose vaccine  $10^6$  sel/ml was given optimum result on survival rate and total leucocyte of fish, although total leucocyte between treatment D,

E, and F not significant but the highest survival rate on treatment D. Clinical sign of fish control more appear than fish which vaccination.

Keywords: *O. gouramy*, Whole Cell Vaccine *A. hydrophilla*, Survival Rate of Fish, Total Leucocyte, Clinical Sign

## PENDAHULUAN

Ikan gurami (*O. gouramy*) merupakan salah satu komoditi perikanan air tawar yang cukup penting. Menurut Nugroho (2010), tiga hal yang patut dipertimbangkan untuk mengembangkan budidaya ikan gurami adalah ikan gurami memiliki nilai jual tinggi, biaya pemeliharaan relatif rendah dan dapat hidup pada perairan berkadar oksigen rendah. Salah satu kendala dalam budidaya ikan gurami adalah menurunnya jumlah produksi yang disebabkan oleh penyakit bakterial (Setiawan dkk., 2012). Minaka dkk. (2012) melaporkan bahwa salah satu penyebab penyakit pada ikan gurami adalah *A. Hydrophila*. Bakteri tersebut dapat menyebabkan penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) dengan tingkat kematian yang tinggi berkisar 80-100% dalam kurun waktu 1-2 minggu.

Upaya penanggulangan penyakit pada ikan banyak menggunakan antibiotik atau bahan kimia. Hal tersebut dianggap tidak efektif untuk digunakan karena dapat meninggalkan residu pada tubuh ikan sehingga membahayakan bagi manusia yang mengkonsumsinya (Utami dkk., 2013). Pencegahan yang efektif dilakukan adalah vaksinasi. Vaksinasi dapat menggunakan vaksin atau patogen yang telah dilemahkan dengan bahan kimia atau pemanasan. Jenis vaksin yang digunakan dalam penanggulangan penyakit bakterial, antara lain vaksin *whole cell* (sel utuh), vaksin dari dinding sel bakteri Gram negatif yang masih mengandung lipopolisakarida (LPS), vaksin dari sitoplasma bakteri, vaksin dari debris dan lain-lain (Mulia, 2006). Pemberian vaksin dapat memicu peningkatan total leukosit ikan, sehingga respon pertahanan tubuh dan tingkat kelulushidupan ikan meningkat (Utami dkk., 2013). Perhitungan total leu-

kosit ikan merupakan salah satu parameter hematologi yang dapat digunakan sebagai aspek pendukung dalam menentukan status kesehatan ikan dan memastikan diagnosa suatu penyakit (Purwanto, 2006).

## METODOLOGI

### Waktu dan Tempat

Kegiatan penelitian ini telah dilakukan di Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Surabaya II (identifikasi bakteri), Laboratorium Kering dan Laboratorium Basah Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga (pembuatan vaksin dan pemeliharaan ikan uji). Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Maret - Agustus 2016.

### Materi Penelitian

#### Peralatan Penelitian

Alat yang digunakan adalah akuarium (60x40x40) cm, alat suntik 1 ml, aerator, gelas objek, gelas penutup, mikrotube, *haemocytometer*, pipet bulir pengaduk, mikroskop, *hand counter*, erlenmayer, *autoclave*, *hot plate*, *centrifuge*, gelas ukur, tabung reaksi, dan inkubator.

#### Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan gurami ukuran 12-13 cm (19,65 gr), darah ikan gurami, *Ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) kering 1-1,5 mg/ml darah atau cair 0,01 ml/1 ml darah, larutan *Turk's*, isolat *A. hydrophila*, media *Tryptic Soy Broth* (TSB), *Tryptic Soy Agar* (TSA), *aquadest*, *Phosphate Buffer Saline* (PBS), formalin 2%, dan pakan pelet.

### Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan rancangan acak

lengkap (RAL) yang terdiri dari enam perlakuan dan tiga kali ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah tingkatan dosis vaksin, antara lain A (K-), B (K+), C ( $10^5$  sel/ml), D ( $10^6$  sel/ml), E ( $10^7$  sel/ml), dan F ( $10^8$  sel/ml). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan dosis vaksin *whole cell A. hydrophilla* terhadap kelulushidupan, total leukosit dan gejala klinis ikan gurami.

### Prosedur Kerja

#### Penentuan *Lethal Dose* $50$ ( $LD_{50}$ ) *A. hydrophilla*

Uji patogenisitas menggunakan ikan uji berukuran  $\pm 12$  cm sebanyak 120 ekor. Ikan gurami diinfeksi dengan *A. hydrophilla* secara injeksi intraperitoneal dengan dosis 0,1 ml suspensi bakteri dengan kepadatan 0 (kontrol),  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$ , dan  $10^8$  sel/ml. Konsentrasi bakteri dihitung dengan *spektrofotometer* ( $\lambda=625$  nm) mengacu pada standar McFarland (Sari dkk., 2013). Pengamatan dilakukan setiap hari selama 7 hari untuk mengetahui kematian pada masing-masing perlakuan. Perhitungan  $LD_{50}$  dilakukan dengan metode Reed and Muench (1938). Dosis  $LD_{50}$  *Aeromonas hydrophilla* yang diperoleh adalah  $8,3023 \times 10^5$  sel/ml. Hasil tersebut selanjutnya digunakan sebagai dosis untuk uji tantang vaksin. Data mortalitas hasil uji  $LD_{50}$  dapat dilihat pada Tabel 1.

Kepadatan Bakteri (sel/ml)	Mortalitas
$10^4$	13,3333%
$10^5$	32,2033%
$10^6$	51,5625%
$10^7$	59,6774%
$10^8$	84,2105%

#### Persiapan Wadah

Wadah yang digunakan yaitu akuarium (40x40x60) cm. Akuarium terlebih dahulu dibersihkan dan direndam klorin, kemudian dibilas hingga tidak berbau klorin dan dikeringkan. Akuarium diisi air setinggi 30 cm dan diberi aerasi.

#### Persiapan Ikan Uji

Ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) dengan ukuran panjang 12,17 cm dan berat 19,65 gr sebanyak 180 ekor atau 10 ekor per akuarium. Ikan diaklimatisasi selama seminggu sebelum diberikan perlakuan untuk memberikan waktu pada ikan beradaptasi dengan lingkungan yang baru. Selama masa adaptasi dan perlakuan, ikan diberi pakan pelet sebanyak dua kali sehari (pagi dan sore).

#### Kultur Bakteri *A. hydrophilla*

Isolat bakteri *Aeromonas hydrophilla* diperoleh dari isolasi pada ikan gurami yang terserang *Aeromonas hydrophilla*. Isolat tersebut telah di *suspect* (dikembalikan virulensinya). Isolat bakteri dikultur pada media cair *Tryptic Soy Broth* (TSB) 10 ml yang dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang.

#### Pembuatan Vaksin *Whole Cell A. hydrophilla*

Pembuatan vaksin *whole cell A. hydrophilla* menggunakan metode yang telah digunakan Kamiso dan Triyanto (1990) dalam Mulia (2006). Biakan bakteri dimatikan dengan 2% formalin selama 24 jam. Biakan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, selanjutnya supernatan dibuang. Pelet vaksin dicuci dengan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) sebanyak tiga kali masing-masing selama 10 menit dengan kecepatan 1500 rpm. Konsentrasi bakteri dihitung dengan *spektrofotometer* ( $\lambda=625$  nm) mengacu pada standar McFarland (Sari dkk., 2013). Uji viabilitas dan keamanan vaksin perlu dilakukan. Vaksin yang telah diperoleh distreak pada medium spesifik *Glutamate Starch Phenol Red Agar* (GSP) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang.

#### Penyuntikan Vaksin *Whole Cell A. hydrophilla*

Penyuntikan vaksin dilakukan secara intraperitoneal, dengan enam per-

lakukan yaitu (A) ikan divaksinasi 0,1 ml/ikan ( $10^5$  sel/ml) tetapi tidak diinfeksi *Aeromonas hydrophila* (kontrol -), (B) ikan tidak divaksinasi tetapi diinfeksi *Aeromonas hydrophila* (kontrol +), (C) kepadatan  $10^5$  sel/ml dengan volume 0,1ml/ikan, (D) kepadatan  $10^6$  sel/ml dengan volume 0,1ml/ikan, (E) kepadatan  $10^7$  sel/ml dengan volume 0,1ml/ikan, dan (F) kepadatan  $10^8$  sel/ml dengan volume 0,1ml/ikan. Vaksinasi dilakukan pada hari ke-1, kemudian dilakukan *booster* (vaksinasi kedua) dengan dosis dan metode yang sama pada hari ke-8.

### Uji Tantang

Ikan gurami yang telah diberi vaksin kemudian diuji tantang dengan cara menginfeksi bakteri *A. hydrophila* yang telah ditentukan nilai  $LD_{50}$ . Uji tantang dilakukan secara injeksi intraperitoneal dengan dosis 0,1 ml/ikan pada hari ke 15. Ikan yang telah diinjeksi kemudian dipelihara selama 7 hari. Selama pemeliharaan dilakukan pengamatan total leukosit, kelulushidupan ikan gurami dan gejala klinis. Gejala klinis diamati secara deskriptif selama 7 hari.

Perhitungan kelulushidupan menggunakan rumus menurut Zonneveld dkk. (1991) sebagai berikut:

$$SR = \left( \frac{Nt}{N0} \right) \times 100\%$$

Keterangan:

SR = *Survival Rate*

Nt = Jumlah ikan yang hidup pada waktu (t) akhir penelitian

N0 = Jumlah Ikan yang hidup pada awal penelitian

### Pengambilan dan perhitungan Darah

Pengambilan darah dilakukan setiap 7 hari sekali sebelum vaksinasi (hari ke-0), setelah vaksinasi (hari ke-7 dan ke-14) dan pasca uji tantang (hari ke-21). alat suntik telah dibilas dengan *Ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) kemudian darah diambil pada bagian vena caudalis yaitu

pembuluh darah yang terletak tepat di bagian ventral tulang vertebra (Maswan, 2009).

Metode perhitungan total leukosit menggunakan metode yang telah digunakan oleh Blaxhall and Daisley (1973). Sampel darah dihisap dengan pipet yang berisi bulir pengaduk warna putih hingga skala 0,5 kemudian larutan *Turk's* ditambahkan hingga skala 11. Pengadukan dilakukan di dalam pipet dengan cara mengayunkan tangan yang memegang pipet seperti membentuk angka delapan selama 3-5 menit hingga darah tercampur rata, kemudian teteskan sampel darah pada *haemocytometer* dan ditutup dengan gelas penutup. Jumlah total leukosit dihitung sebanyak 4 kotak besar dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Total Leukosit} = \text{jumlah sel leukosit} \\ \text{terhitung} \times 50 \text{ sel/mm}^3$$

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Perhitungan kelulushidupan dilakukan setelah uji tantang. Perhitungan kelulushidupan berdasarkan angka hidup ikan awal dan akhir penelitian. Data rata-rata kelulushidupan disajikan pada Tabel.2.

Hasil Analisis Varian (ANOVA) dengan selang kepercayaan 95% menunjukkan bahwa perbedaan dosis vaksin berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap kelulushidupan ikan gurami. Data rata-rata kelulushidupan menunjukkan bahwa kelulushidupan tertinggi diperoleh pada perlakuan D yaitu 54,17%. Kelulushidupan yang dihasilkan dalam penelitian ini masih rendah dibandingkan penelitian Mulia (2007) dengan antigen yang sama dan pada ikan yang sama yaitu 58%. Hal ini diduga karena perbedaan ukuran berat ikan gurami. Penelitian Mulia (2007) menggunakan berat ikan 28 gr, sedangkan pada penelitian ini menggunakan berat ikan dengan rata-rata 19,65 gr. Berat ikan yang lebih kecil dalam satu spesies menunjukkan umur yang lebih muda. Ikan muda belum memiliki sistem pertahanan tubuh

yang sempurna. Hal ini dapat diartikan bahwa sistem pertahanan tubuh ikan uji yang digunakan pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan ikan yang digunakan pada penelitian Mulia (2007). Menurut Irianto (2005), masing-masing individu memiliki daya tahan tubuh yang berbeda, hal tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain umur, jenis kelamin, status nutrisi, dan stres.

Perhitungan total leukosit dilakukan pada saat sebelum vaksinasi (H0), setelah vaksinasi pertama (H7), setelah vaksinasi kedua (H14) dan setelah ujiantang (H21) dengan menggunakan metode kamar hitung *big block*. Data rata-rata total leukosit ikan disajikan pada Tabel.3.

Tabel.2. Data rata-rata kelulushidupan Ikan

Perlakuan	Kelulushidupan (%) ± SD	Transformasi $\sqrt{y} \pm SD$
A (K-)	41,67 <sup>a</sup> ± 7,21	6,43 ± 0,54
B (K+)	12,50 <sup>b</sup> ± 12,50	2,84 ± 2,57
C	37,50 <sup>a</sup> ± 0,00	6,12 ± 0,00
D	54,17 <sup>a</sup> ± 7,21	7,34 ± 0,48
E	33,33 <sup>a</sup> ± 19,09	5,57 ± 1,83
F	50,00 <sup>a</sup> ± 21,65	6,93 ± 1,67

Keterangan : Notasi yang ditunjukkan dengan huruf *superscript* berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ).

Tabel.3. Total leukosit ikan gurami (*Osphronemus gouramy*)

Perlakuan	Peningkatan Total Leukosit ( $\times 10^3$ sel/mm <sup>3</sup> ) ± SD			
	H0	H7	H14	H21
A(K-)	9,46 <sup>a</sup> ± 0,03	19,55 <sup>b</sup> ± 0,03	15,67 <sup>a</sup> ± 0,23	11,18 <sup>c</sup> ± 0,04
B(K+)	8,35 <sup>ab</sup> ± 0,03	8,99 <sup>d</sup> ± 0,04	13,35 <sup>a</sup> ± 0,05	13,85 <sup>b</sup> ± 0,01
C (10 <sup>5</sup> sel/ml)	7,81 <sup>b</sup> ± 0,03	18,97 <sup>b</sup> ± 0,03	15,41 <sup>a</sup> ± 0,02	10,65 <sup>c</sup> ± 0,03
D (10 <sup>6</sup> sel/ml)	8,93 <sup>a</sup> ± 0,02	18,83 <sup>b</sup> ± 0,006	20,43 <sup>a</sup> ± 0,20	15,08 <sup>ab</sup> ± 0,05
E (10 <sup>7</sup> sel/ml)	8,90 <sup>a</sup> ± 0,02	27,43 <sup>a</sup> ± 0,02	14,11 <sup>a</sup> ± 0,02	17,00 <sup>a</sup> ± 0,01
F (10 <sup>8</sup> sel/ml)	8,67 <sup>ab</sup> ± 0,01	16,13 <sup>c</sup> ± 0,01	14,50 <sup>a</sup> ± 0,05	17,17 <sup>a</sup> ± 0,03

Keterangan : Notasi yang ditunjukkan dengan huruf *superscript* berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ).

Hasil Analisis Varian (ANOVA) dengan selang kepercayaan 95% menunjukkan bahwa perbedaan dosis vaksin berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap total leukosit ikan gurami pada H0, H7 dan H21, tetapi tidak berpengaruh nyata ( $p > 0,05$ ) terhadap total leukosit ikan gurami pada H14. Data hasil rata-rata total leukosit ikan gurami sebelum perlakuan (H0) berkisar antara 7,81-9,46  $\times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>, kemudian mengalami peningkatan pasca vaksinasi (hari ke-7). Data hasil rata-rata total leukosit hari ke-7 mengalami peningkatan pada semua per-

lakuan. Peningkatan tersebut berhubungan dengan masuknya benda asing dalam tubuh dan respon leukosit sebagai alat pertahanan tubuh. Hal ini menunjukkan bahwa vaksin *whole cell* bersifat imunogenik sehingga berhasil meningkatkan respon pertahanan seluler. Alifuddin (2002) menyatakan bahwa vaksin yang diberikan harus bersifat antigenik, imunogenik dan protektif agar memacu terbentuknya respon imun.

Data rata-rata total leukosit hari ke-14 menunjukkan bahwa total leukosit perlakuan A,C, E, dan F mengalami

penurunan, sedangkan perlakuan B dan D meningkat. Peningkatan total leukosit perlakuan D sebesar  $20,43 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup> menunjukkan bahwa dosis vaksinasi  $10^6$  sel/ml masih mampu memperkuat sistem pertahanan seluler. Penurunan dan peningkatan total leukosit disebabkan perbedaan kemampuan ikan untuk merespon bahan asing yang masuk. Menurut Anderson (1992), respon kekebalan non spesifik dan spesifik dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya ialah immunosupresi. Immunosupresi disebabkan oleh dosis yang terlalu rendah atau tinggi, sehingga tubuh ikan tidak mampu merespon rangsangan antigenik yang masuk kedalam tubuh ikan.

Data rata-rata total leukosit hari ke-21 (pasca ujiantang) menunjukkan terjadinya penurunan total leukosit pada perlakuan C dan D. Penurunan tersebut disebabkan adanya infeksi bakteri. Leukosit pada pembuluh darah bergerak menuju jaringan yang terinfeksi untuk melakukan perlawanan terhadap bakteri. Hal tersebut sependapat dengan Utami dkk. (2013) bahwa penurunan total leukosit terjadi setelah tujuh hari ujiantang dan sebagian besar leukosit pada pembuluh darah bergerak menuju jaringan-jaringan yang terinfeksi. Hal berbeda ditunjukkan pada perlakuan B, E dan F. Menurut Nurjannah dkk. (2013), total leukosit ikan meningkat pada hari ke-4 pasca ujiantang, sedangkan pada penelitian ini leukosit perlakuan B, E, dan F masih meningkat sampai hari ke-7 pasca ujiantang. Total leukosit pada perlakuan B (kontrol +) meningkat akibat infeksi bakteri, sedangkan perlakuan E dan F diduga akibat pengaruh immunosupresi. Immunosupresi pada tubuh ikan yang divaksinasi dengan dosis  $10^7$  sel/ml dan  $10^8$  sel/ml mengakibatkan menurunnya kemampuan tubuh ikan dalam membentuk respon imun yang ditunjukkan dengan rendahnya total leukosit pada hari ke-14. Hal ini menunjukkan bahwa tubuh ikan pada perlakuan yang tidak divaksin maupun yang divaksin dengan dosis  $10^7$  sel/ml dan  $10^8$  sel/ml masih lebih banyak

membutuhkan sel fagosit, sehingga tubuh ikan masih memproduksi sel leukosit untuk melawan bakteri yang menginfeksi.

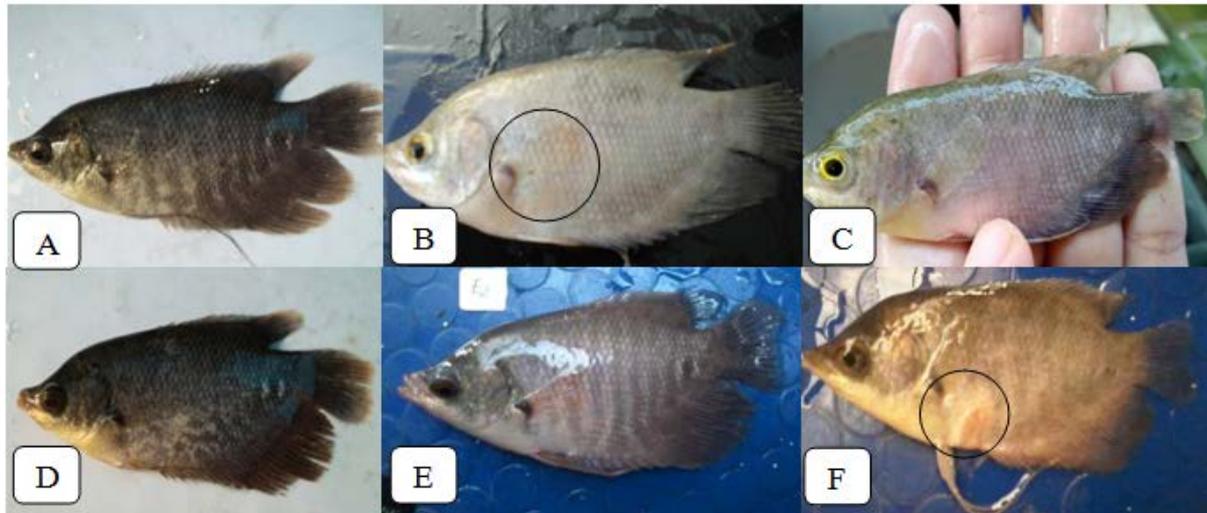
Dosis optimum vaksin diperoleh pada perlakuan D yaitu dosis  $10^6$  sel/ml, meskipun dilihat dari total leukosit perlakuan E dan F tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, tetapi jika dilihat dari kelulushidupan ikan yang tertinggi pada perlakuan D yaitu 54,17%. Terbentuknya respon imun tubuh dipicu oleh masuknya antigen ke dalam tubuh kemudian dihadapi oleh sel-sel makrofag. Sel makrofag menempel pada antigen dan melakukan fagositosis (Setiawan dkk., 2012). Mekanisme fagositosis diawali dengan adanya sinyal kimiawi yang dilepaskan oleh sel-sel yang berinteraksi dengan antigen. Sinyal tersebut merangsang peningkatan jumlah neutrofil dan monosit dalam darah, kemudian terjadi kemotaksis dan memasuki jaringan awal masuknya antigen tersebut (Campbell *et al.*, 1999).

Pengamatan gejala klinis pada ikan dilakukan setelah ujiantang. Pengamatan tersebut bertujuan untuk mengetahui perubahan pada tubuh ikan baik ikan kontrol maupun ikan yang telah divaksinasi. Gejala klinis akibat infeksi *A. hydrophilla* tampak pada hari kedua, yaitu sirip geripis, bercak merah atau hemorragic pada tubuh, sirip berwarna keputih-putihan dan luka pada tubuh. Gejala klinis ikan gurami pasca ujiantang dengan *A. hydrophilla* dapat dilihat pada Gambar 1.

Menurut Cipriano (2001), ikan yang terserang *A. hydrophilla* umumnya akan menimbulkan *ulcer* atau luka pada kulit, ekor, mata, *erythrodermatitis*, hemoragi atau kemerah-merahan pada tubuh. Pada infeksi akut menunjukkan *septicemia* yang parah. Minaka dkk., (2012) juga mengemukakan bahwa gejala klinis ikan gurami yang terserang *A. hydrophilla* adalah terdapat luka kemerahan (hemoragi) di bagian tubuh, luka-luka di beberapa tubuh, sirip geripis dan berwarna kemerahan. Berdasarkan hal tersebut dapat diketahui bahwa gejala klinis pada ikan gurami yang

telah divaksinasi maupun tidak divaksinasi tidak terlalu parah, namun kondisi ikan

yang divaksinasi lebih baik dibandingkan dengan ikan kontrol.



Keterangan : A : kontrol (-) vaksinasi  $10^5$  sel/ml tanpa infeksi, B : kontrol (+) tanpa vaksinasi, tapi diinfeksi, C : vaksinasi  $10^5$  sel/ml dan diinfeksi D : vaksinasi  $10^6$  sel/ml dan diinfeksi, E : vaksinasi  $10^7$  sel/ml dan diinfeksi, dan F : vaksinasi  $10^8$  sel/ml dan diinfeksi. Bagian yang dilingkari adalah hemorrhagic dan luka.

Gambar 1. Gejala klinis ikan gurami pasca uji tantang dengan *A. hydrophilla*

Ikan gurami dapat hidup pada suhu optimum 27-30 °C, pH 7-8, dan DO 4-5 ppm (Sulhi, 2007). Mulia (2007) melaporkan bahwa ikan gurami hidup pada kisaran suhu 26-28 °C, pH 6,7-7,3, DO 4,6-6,9 ppm, dan CO<sub>2</sub> bebas 5,2-11,5 ppm. Berdasarkan hasil pengamatan selama penelitian, parameter kualitas air tidak menunjukkan keragaman yang besar. Pengukuran dilakukan pagi dan sore hari untuk mengetahui titik terendah dan tertinggi nilai kualitas air. Suhu pagi hari berkisar 26,30-28,25 °C dan sore hari berkisar 27,05-28,25 °C. Nilai pH pagi hari berkisar 7,51-8,4 dan sore hari 7,88-8,17. Nilai oksigen terlarut (DO) pagi hari berkisar 4,66-6,16 dan sore hari berkisar 4,58-6,03 ppm. Kualitas air tersebut masih dalam kisaran normal, sehingga menunjukkan bahwa kualitas air bukan merupakan faktor penyebab kematian ikan gurami dalam penelitian ini.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian vaksin *whole cell A. hydrophilla* dengan dosis yang berbeda dapat berpengaruh terhadap kelulushidupan dan total leukosit ikan gurami. Tingkat kelulushidupan dan total leukosit tertinggi diperoleh pada perlakuan dosis vaksin  $10^6$  sel/ml.

### Saran

Dosis vaksin *whole cell A. hydrophilla*  $10^6$  sel/ml dapat diterapkan dalam upaya pencegahan penyakit pada ikan yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophilla*.

### DAFTAR PUSTAKA

- Alifuddin, M. 2002. Immunostimulasi pada Hewan Akuatik. Jurnal Akuakultur Indonesia. 1 (2): 87-92.
- Anderson, D. P. 1992. Immunostimulans, Adjuvants, and Vaccine Corries in Fish Application to Aquaculture. U.S. Fish and Wildlife Service.

- Kearneysville, West Virginia, USA.
- Blaxhall, P. C., and Daisley, K. W. 1973. Routine Haematological Methods for Use with Fish Blood. *Journal of Fish Biology*. 5 (6): 771-781.
- Campbell, N. A., Jane B. R., and Lawrence G. M. 1999. *Biologi. Terjemahan: W. Manatu*. Erlangga. Jakarta. hal 74-81.
- Cipriano, R.C. 2001. *Aeromonas hydrophila* and Motile *Aeromonas Septicemia* of Fish. *Fish Disease Leaflet* 68: 25 page.
- Lillehaug, A. 2014. Vaccination Strategies and Procedures. *In* : R. Gudding, A. Lillehaug, and Ø. Evensen (Eds.). *Fish Vaccination*. 1<sup>st</sup> edition. John Wiley and Sons, Ltd. Norway. Pp.140-150.
- Maswan, N. A. 2009. Pengujian Efektivitas Dosis Vaksin DNA dan Korelasinya Terhadap Parameter Hematologi Secara Kuantitatif. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 70 hal.
- Mulia. 2006. Keefektifan Vaksin *Aeromonas hydrophila* untuk Mengendalikan Penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) pada Gurami (*Osphronemus gouramy*). *Jurnal Pembangunan Pedesaan*. 7 (1):43-52.
- Mulia, D. S., dan C. Purbomartono. 2007. Perbandingan Efikasi Vaksin Produk Intra dan Ekstraseluler *Aeromonas hydrophila* untuk Menanggulangi Penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) pada Lele Dumbo (*Clarias* sp.). *Journal of Fisheries Sciences*. 9(2): 173-181.
- Nugroho, E., J. Subagja, dan Sulhi. 2010. Optimasi Budidaya Ikan Gurame. Penelitian. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar. Bogor. 34 hal.
- Purwanto, A. 2006. Gambaran Darah Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Terinfeksi Koi Herpes Virus. Skripsi. Program Studi Teknologi dan Manajemen Akuakultur. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 35 hal.
- Reed, L. J., and H. Muench. 1938. A Simple Method of Estimating Fifty Per Cent Endpoints. *The American Journal of Hygiene*. 27 (3): 493-497.
- Sari, R. H., Agus. H, dan Suparmono. 201. Peningkatan Imunogenisitas Vaksin Inaktif *Aeromonas salmonicida* dengan Penambahan Adjuvant pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. 1 (2) : 87-94.
- Setiawan, R B., Dulm'ia, I., dan Rosidah. 2012. Efektivitas Vaksin dari Bakteri *Mycobacterium fortuitum* yang Diinaktivasi dengan Pemanasan Untuk Pencegahan Penyakit Mycobacteriosis pada Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*). Laporan Penelitian. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Padjajaran. Bandung. 16 hal.
- Sulhi, M. 2007. Produksi Benih Gurame Dilahan Sempit. Seminar Nasional Hari Pangan Sedunia. Balai Riset Perikanan Budidaya air Tawar. Bogor. pp 174-179.
- Utami, D. T., S. B. Prayitno, S. Hastuti, dan A. Santika. 2013. Gambaran Parameter Hematologis pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diberi Vaksin DNA *Streptococcus iniae* dengan Dosis yang Berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2 (4): 7-20.
- Zonneveld, E. A., dan Huisman. 1991. Prinsip-prinsip Budidaya Ikan. Gramedium. Jakarta.