

## Imunogenisitas *Heat Killed* Vaksin *Aeromonas hydrophila* Strain GPI-03, GL-02, dan GK-01 Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

Dio Alif Nugroho<sup>1)</sup>, Dini Siswani Mulia<sup>2)</sup>, Heri Maryanto<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Purwokerto

<sup>2)</sup>Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Purwokerto

Email: [dio.alifn@gmail.com](mailto:dio.alifn@gmail.com)

**Abstrak-** Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui imunogenitas *heat killed* vaksin *A. hydrophila* strain GPI-03, GL-02 dan GK-01 pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan penelitian ini meliputi: kontrol/tanpa vaksin (P1), vaksin GPI-03 (P2), vaksin GL-02 (P3), vaksin GK-01 (P4). Ikan lele dumbo yang digunakan sebanyak 120 ekor dengan setiap perlakuan sebanyak 10 ekor. Pemberian vaksin dilakukan melalui injeksi sebanyak 2 kali dengan 1 kali vaksinasi dan satu kali booster sebesar 0,1 ml dengan kepadatan  $10^8$  sel/ml. Parameter yang diamati adalah titer antibodi dan uji reaksi silang, sedangkan parameter pendukungnya adalah kualitas air yang meliputi suhu, oksigen terlarut/ dissolve oxygen (DO) dan pH. Analisis data menggunakan (Analysis of Varians) ANOVA dan uji lanjut Duncan Multiple Range Test (DMRT) dengan tingkat kepercayaan 95%. Data titer antibodi dan kualitas air dianalisis secara deskriptif. Hasil analisis menunjukkan bahwa ikan yang divaksinasi terjadi peningkatan imunogenitas yang ditandai dengan peningkatan nilai titer antibodi setiap strain bakteri. Perlakuan P2 (GPI-03) dan P3 (GL-02) merupakan strain dengan imunogenitas sama baik, sehingga baik digunakan sebagai bahan vaksin untuk lele dumbo.

**Kata kunci:** *Aeromonas hydrophila*, Imunogenitas, lele dumbo, titer antibodi, vaksin *heat killed*

### PENDAHULUAN

Ikan lele dumbo merupakan komoditas ikan air tawar unggulan yang telah banyak dibudidayakan dan memiliki prospek pasar yang kompetitif. Kementerian Kelautan dan Perikanan juga menyebutkan bahwa produksi ikan lele tahun 2013 meningkat menjadi 758.455 ton, naik dibandingkan tahun 2012 yaitu sebesar 441.217 ton (KKP, 2013). Hal tersebut didukung oleh data tingkat konsumsi ikan nasional yang mengalami peningkatan dari 32,25 Kg/Kapita pada tahun 2011 menjadi 33,89 Kg/Kapita pada tahun 2012 (KKP, 2013).

Perkembangan budidaya lele dumbo semakin berkembang pesat dengan permintaan yang semakin tinggi untuk memenuhi kebutuhan pasar. Hal tersebut menimbulkan permasalahan dalam budidaya lele dumbo yaitu penyakit. Salah satu penyakit yang sering menyerang ikan lele disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* yang menyebabkan penyakit MAS (*motile aeromonas septicemia*) (Angka, 2005). Wabah penyakit MAS menyebabkan kematian mencapai 80-100% di daerah Jogjakarta dalam waktu yang singkat (1-2 minggu) (Lukistyowati & Kurniasih, 2012). Hal tersebut tentu menimbulkan kerugian yang besar dalam kegiatan budidaya.

Salah satu upaya pengendalian penyakit MAS adalah melalui vaksinasi. Vaksinasi adalah salah satu

cara pemberian rangsangan atau antigen secara sengaja agar ikan dapat memproduksi antibodi terhadap suatu bibit penyakit atau patogen (Mulia, 2012).

Penelitian terhadap strain bakteri *A. hydrophila* telah dilakukan oleh Mulia (2010) yang menunjukkan bahwa strain GPI-03, GL-02, dan GK-01 termasuk ke dalam 10 strain bakteri yang diisolasi di Kabupaten Banyumas Purbalingga, dan Banjarnegara. Strain bakteri *A. hydrophila* tersebut tergolong bakteri yang ganas karena dapat menyebabkan kematian mencapai 100%. Oleh karena itu, perlu dilakukan penanggulangan untuk mengurangi angka kematian akibat serangan bakteri *Aeromonas hydrophila* tersebut.

Dalam pengembangannya, metode pembuatan vaksin yang sering dilakukan adalah dengan *formalin killed* dengan hasil imunogenisitas yang cukup tinggi. Asumsi tersebut dibuktikan pada penelitian Prawesjeki (2015) menunjukkan bahwa semua strain bakteri *A. hydrophila* yang berasal dari daerah Banyumas diinaktivasi menggunakan formalin 2% dan telah dicobakan pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) memiliki kemampuan yang baik dengan memproduksi titer antibodi  $\geq 2^5$ .

Belum diketahui imunogenisitas vaksin inaktif *A. hydrophila* dengan pemanasan (*heat killed*) pada ikan lele dumbo yang diperoleh dengan cara bakteri diinaktivasi melalui pemanasan air sampai 100°C.

Penelitian Wintoko *et al.* (2013) menunjukkan bahwa hasil titer antibodi yang dirangsang dengan antigen *O. A. salmonicida* memiliki respon imun adaptif yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak diberikan vaksin.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui imunogenisitas *heat killed* vaksin *A. hydrophila* strain GPI-03, GL-02, dan GK-01 pada ikan lele dumbo serta mencari strain bakteri yang memiliki imunogenisitas paling baik untuk dibuat sebagai vaksin.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Prodi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Purwoketo. Penelitian berlangsung pada bulan Februari sampai September 2016.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah tabung reaksi, rak tabung, Petri disk, glass Beaker, jarum Ose lurus, pipet tetes, labu Erlenmeyer, lampu Bunsen, batang Drugalski, timbangan analitik, spatula, corong, tabung konikal, tabung Eppendorf, mikropipet, vortex, shaker, inkubator, laminar air flow (LAF), tabung sentrifuse, pengaduk, autoklaf, label, nampan, aluminium foil, hotplate, waterbath, dan sentrifuse, ember plastik sebanyak 12 buah, timbangan untuk mengukur berat ikan, penggaris untuk mengukur panjang ikan, seser besar dan kecil, alat suntik (sprit 1 ml), sentrifuse Eppendorf dan alat pengukur kualitas air (termometer, pH meter, dan DO).

Bahan yang digunakan adalah Isolat bakteri *A. hydrophila* strain GPI-03, GI-02, GK-01, media *Tryptic Soy Broth* (TSB), *Tryptic Soy Agar* (TSA), *Glutamate Starch Phenile* (GSP), larutan *Phosphat Buffer Saline* (PBS), alkohol, betadine, akuades, dan minyak cengkeh, Air panas. Hewan uji yang digunakan ikan lele dumbo berukuran panjang 10,8-14,6 cm, berat per-populasi 114-144 gram, dan berumur  $\pm 2$  bulan yang diperoleh dari kolam budidaya di wilayah Purbalingga dan pelet ikan Hi Provite 781-1.

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan tersebut terdiri atas:

- P1 = Non vaksin (kontrol)
- P2 = Vaksin strain GPI-03
- P3 = Vaksin strain GL-02
- P4 = Vaksin strain GK-01

Masing-masing perlakuan diulang 3 kali. Pemberian vaksin dilakukan dengan *booster* yaitu memberikan suntikan bakteri secara intramuskular sebanyak 0,1 ml/ekor dengan kepadatan bakteri  $10^8$  sel/ekor ke bagian punggung tepat dibelakang kepala. Vaksinasi dilakukan 2 kali pengulangan dengan selang waktu 8 hari setelah dilakukan vaksinasi pertama.

### Prosedur Penelitian

Tahapan prosedur penelitian terdiri dari 3 tahap yaitu:

- a. Tahap persiapan meliputi sterilisasi alat dan bahan, pembuatan media kultur *A. hydrophila*, purifikasi isolat bakteri *A. hydrophila*, kultur bakteri *A. hydrophila*, pembuatan vaksin *A. hydrophila*, serta persiapan wadah dan ikan uji.
- b. Tahap pelaksanaan, meliputi pemberian vaksin dan uji imunogenitas pada lele dumbo.

Tahap pengamatan terdiri atas 2 parameter yaitu parameter utama dan parameter pendukung. Parameter utama meliputi produksi titer antibodi dan uji reaksi silang, sedangkan parameter pendukung meliputi kualitas air (suhu, pH, dan DO).

### Analisis Data

Data yang terkumpul dari uji titer antibodi ditransformasikan ke dalam bentuk logaritma (data log 2). Selanjutnya, data titer antibodi dianalisis menggunakan analisis sidik ragam (*Analysis of Variance/ ANOVA*) untuk mengetahui pengaruh terhadap perlakuan. Apabila hasil ANOVA menunjukkan perbedaan yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf uji 5% (Steel & Torrie, 1993), sedangkan pengamatan uji reaksi silang dan kualitas air dianalisis secara deskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Titer Antibodi

Titer antibodi merupakan hasil respon dari sistem pertahanan humoral makhluk hidup, berupa protein dengan bentuk menyerupai huruf Y (*roughly Y-shape*) yang digunakan sebagai sistem pertahanan tubuh untuk mengidentifikasi, menetralisasi, dan membunuh benda asing ataupun patogen seperti bakteri dan virus (Thomas, 2004). Mekanisme terbentuknya antibodi dimulai dari masuknya vaksin sebagai antigen dalam tubuh yang akan direspon oleh makrofag. Pesan yang diterima oleh makrofag akan dikirimkan ke sel-sel fagosit yang akan meningkatkan terbentuknya monosit dan limfosit. Sel limfosit tersebut dapat mengenali antigen, merangsang sel memori, dan sel B untuk menghasilkan antibodi. Peningkatan titer antibodi dapat terlihat dengan terjadinya aglutinasi pada uji titer antibodi (Wintoko *et al.*, 2013).

Hubungan pemberian vaksin terhadap peningkatan titer antibodi yaitu dengan terbentuknya sel fagosit yang berfungsi sebagai pengenalan antigen (vaksin) yang diberikan pada tubuh ikan.

**Tabel 4.1.** Titer Antibodi Lele Dumbo Minggu ke-0

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
P1	2 <sup>1</sup>	2 <sup>1</sup>	2 <sup>1</sup>	2 <sup>1a</sup>
P2	2 <sup>2</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>2a</sup>
P3	2 <sup>1</sup>	2 <sup>1</sup>	2 <sup>1</sup>	2 <sup>1a</sup>
P4	2 <sup>1</sup>	2 <sup>1</sup>	2 <sup>1</sup>	2 <sup>1a</sup>

Berdasarkan **Tabel 4.1** hasil titer antibodi masing-masing perlakuan pada awal penelitian (minggu ke-0) hampir semua titer antibodi memiliki nilai yang sama yaitu 2<sup>1</sup> kecuali pada perlakuan P2 memiliki nilai 2<sup>2</sup>. Hal tersebut terjadi karena ikan lele telah memproduksi antibodi secara alamiah. Menurut Bratawijaya (2004) setiap organisme memiliki respon imun nonspesifik yang tidak ditujukan untuk mikroorganisme tertentu maupun untuk bakteri yang sudah terdapat di dalam tubuh, namun telah ada dan siap berfungsi sejak lahir.

**Tabel 4.2.** Titer Antibodi Satu Minggu Setelah Vaksinasi I (minggu ke-1)

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
P1	2 <sup>1</sup>	2 <sup>0</sup>	2 <sup>1</sup>	2 <sup>0,67a</sup>
P2	2 <sup>4</sup>	2 <sup>4</sup>	2 <sup>3</sup>	2 <sup>3,67c</sup>
P3	2 <sup>2</sup>	2 <sup>3</sup>	2 <sup>3</sup>	2 <sup>2,67bc</sup>
P4	2 <sup>1</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>1,67ab</sup>

Berdasarkan uji lanjut DMRT, dapat diketahui bahwa pada perlakuan P2 dan P3 sudah memberikan pengaruh yang nyata dengan meningkatkan titer antibodi pada ikan lele dumbo, sedangkan P4 belum memiliki pengaruh yang signifikan terhadap kontrol. Hal tersebut diduga terjadi karena perbedaan antar strain bakteri *Aeromonas hydrophila* yang digunakan sebagai vaksin dalam merangsang produksi titer antibodi pada ikan uji. Jadi perlakuan P4 (vaksin strain GK-01) belum dapat merangsang produksi titer antibodi pada waktu 1 minggu setelah vaksinasi I. Pendapat tersebut didukung oleh Mulia (2012) yang menyatakan bahwa setiap strain bakteri *A. hydrophila* yang berasal dari daerah yang berbeda pada umumnya virulensinya juga berbeda. Hal tersebut ternyata berpengaruh terhadap imunogenitas vaksin yang dihasilkan.

**Tabel 4.3.** Titer Antibodi Satu Minggu Setelah Vaksinasi II atau *booster* (Minggu ke-2)

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
P1	2 <sup>1</sup>	2 <sup>0</sup>	2 <sup>1</sup>	2 <sup>0,67a</sup>
P2	2 <sup>3</sup>	2 <sup>3</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>2,67b</sup>
P3	2 <sup>3</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>2,33b</sup>
P4	2 <sup>2</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>2,00b</sup>

Pada minggu ke-2 atau satu minggu setelah dilakukannya vaksinasi II (*booster*), diperoleh hasil yang cukup signifikan artinya setiap perlakuan pemberian vaksin berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap kontrol dan memiliki pengaruh terhadap meningkatnya produksi titer antibodi pada ikan lele dumbo.

Pada perlakuan P4 terjadi peningkatan titer antibodi dari minggu ke-1. Hal tersebut terjadi karena pemberian vaksinasi ulang (*booster*) dapat merangsang produksi titer antibodi pada ikan lele dumbo dengan lebih baik. Asumsi tersebut juga didukung oleh Nurhayati (2004) yang menyatakan bahwa pemberian *booster* dapat merangsang sel memori untuk menstimulasi ulang antigen yang sama lebih cepat dan efisien, sehingga mampu bereaksi dalam pembentukan titer antibodi lebih baik.

Selain itu terdapat penurunan titer antibodi pada perlakuan P2 dan P3 bila dibandingkan dengan minggu ke-1. Hal tersebut diduga karena pada ikan uji terlalu sering mendapatkan perlakuan penyuntikkan seperti pengambilan darah dan pemberian *booster*/vaksinasi ulang yang dilakukan dua hari secara berurutan. Perlakuan yang demikian itu diduga dapat mempengaruhi perubahan titer antibodi. Menurut Nurhayati (2004) lama waktu pemberian dan frekuensi *booster* dapat mempengaruhi pembentukan respon imun pada ikan karena pemberian *booster* tidak akan memberikan efek yang optimal apabila diberikan pada saat yang tidak tepat.

**Tabel 4.4.** Titer Antibodi Dua Minggu Setelah *booster* (Minggu ke-3)

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
P1	2 <sup>2</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>1</sup>	2 <sup>1,67a</sup>
P2	2 <sup>4</sup>	2 <sup>4</sup>	2 <sup>4</sup>	2 <sup>4,00c</sup>
P3	2 <sup>2</sup>	2 <sup>3</sup>	2 <sup>3</sup>	2 <sup>2,67ab</sup>
P4	2 <sup>4</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>3</sup>	2 <sup>3,00bc</sup>

Pada minggu ke-3 atau dua minggu setelah pemberian *booster* pada perlakuan P2 dan P4 berbeda nyata

( $P < 0,05$ ) terhadap kontrol artinya perlakuan tersebut memiliki pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan produksi titer antibodi pada ikan lele dumbo, sedangkan pada perlakuan P3 tidak berbeda nyata dengan kontrol ( $P > 0,05$ ) artinya tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kenaikan titer antibodi. Hal tersebut diduga karena setiap strain bakteri memiliki tingkat keganasan yang berbeda-beda, sehingga berpengaruh juga terhadap respon kecepatan produksi titer antibodi. Asumsi tersebut didukung oleh Mulia (2012) yang menyatakan bahwa setiap strain bakteri *A. hydrophila* dari daerah yang berbeda-beda umumnya memiliki virulensi yang berbeda pula dan hal tersebut berpengaruh terhadap imunogenitas vaksin yang dihasilkan.

**Tabel 4.5.** Titer Antibodi Tiga Minggu Setelah *booster* (Minggu ke-4)

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
P1	2 <sup>2</sup>	2 <sup>2</sup>	2 <sup>1</sup>	2 <sup>1,67a</sup>
P2	2 <sup>5</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>4</sup>	2 <sup>4,67b</sup>

P3	2 <sup>3</sup>	2 <sup>4</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>4,00b</sup>
P4	2 <sup>5</sup>	2 <sup>3</sup>	2 <sup>3</sup>	2 <sup>3,67b</sup>

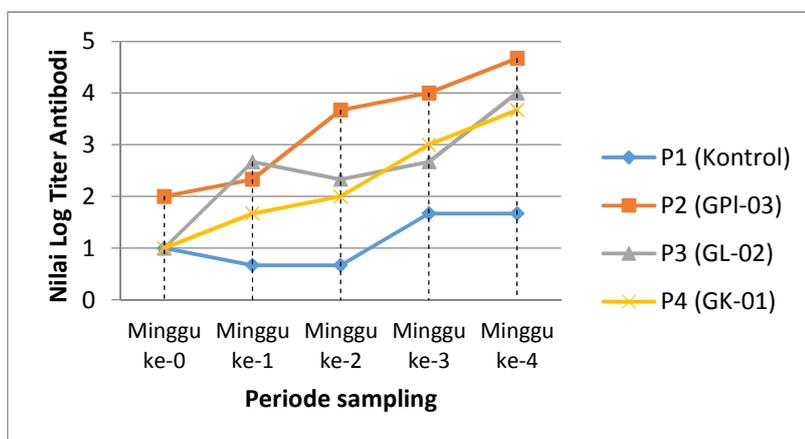
Berdasarkan **Tabel 4.5** menunjukkan bahwa semua perlakuan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap kontrol yang artinya memiliki pengaruh yang signifikan terhadap kenaikan produksi titer antibodi pada ikan lele dumbo, sedangkan antar strain bakteri tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata. Hal tersebut menunjukkan semua strain *A. hydrophila* dapat merangsang produksi titer antibodi sama baik, sehingga tidak terdapat strain terbaik.

Semua strain vaksin dapat mempengaruhi produksi titer antibodi secara optimal pada minggu ke-3 setelah pemberian *booster*. Hal tersebut disebabkan waktu paruh immunoglobulin pada teleostei adalah 16-20 hari. Setelah pemberian vaksin pada ikan akan terjadi periode laten, kemudian disusul periode biosintesis antibodi. Pada minggu kedua dan ketiga setelah pemberian (*booster*) merupakan fase logaritmik pembentukan antibodi dalam jumlah besar karena terjadi penambahan sel plasmasit sebagai hasil pembelahan terulang limfosit B (Nurhayati, 2004). Oleh karena itu pada minggu ke 3 setelah *booster* akan terjadi puncak produksi titer antibody.

**Tabel 4.6.** Titer Antibodi Lele Dumbo Selama 4 Minggu

Perlakuan	Rataan Minggu ke-n				
	Minggu ke-0	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	Minggu ke-4
P1	2 <sup>1a</sup>	2 <sup>0,67a</sup>	2 <sup>0,67a</sup>	2 <sup>1,67a</sup>	2 <sup>1,67a</sup>
P2	2 <sup>2a</sup>	2 <sup>3,67c</sup>	2 <sup>2,67b</sup>	2 <sup>4,00c</sup>	2 <sup>4,67b</sup>
P3	2 <sup>1a</sup>	2 <sup>2,67bc</sup>	2 <sup>2,33b</sup>	2 <sup>2,67ab</sup>	2 <sup>4,00b</sup>
P4	2 <sup>1a</sup>	2 <sup>1,67ab</sup>	2 <sup>2,00b</sup>	2 <sup>3,00bc</sup>	2 <sup>3,67b</sup>

Keterangan: Minggu ke-0= awal penelitian sebelum pemberian vaksin, minggu ke-1= satu minggu setelah vaksinasi I, minggu ke-2= satu minggu setelah vaksinasi II (*booster*), minggu ke-3= dua minggu setelah *booster*, minggu ke-4= tiga minggu setelah *booster*. P1 (perlakuan non vaksin/ kontrol), P2 (Perlakuan pemberian vaksin GPI-03), P3 (Vaksin GL-02), dan P4 (Vaksin GK-01)



**Gambar 4.1.** Grafik Produksi Titer Antibodi Lele Dumbo Selama Penelitian

Berdasarkan **Gambar 4.1** menunjukkan bahwa semua perlakuan pemberian vaksin *heat killed* baik perlakuan P2 (pemberian vaksin GPI-03), P3 (vaksin GL-02) dan P4 (vaksin GK-01) terjadi peningkatan produksi titer antibodi yang signifikan daripada P1 yang tidak diberikan vaksin (kontrol). Berdasarkan **Tabel 4.6** rata-rata nilai titer antibodi lele dumbo yang diberikan vaksinasi pada minggu terakhir  $\sim 2^4$ , sehingga seluruh vaksin strain tersebut dikategorikan cukup baik dalam merangsang produksi titer antibodi pada ikan lele dumbo.

Vaksinasi pada perlakuan P2 dan P4 selalu merangsang peningkatan titer antibodi setiap minggunya, sedangkan perlakuan P3 terjadi penurunan pada minggu ke-2, namun untuk minggu selanjutnya terjadi peningkatan produksi titer antibodi. Hal tersebut disebabkan karena adanya variasi genetik pada bakteri *A. hydrophila* yang memiliki respon berbeda-beda terhadap rangsangan berupa antigen (vaksin) yang dimasukkan ke dalam tubuh. Asumsi tersebut juga diperkuat berdasarkan penelitian Kamiso *et al.* (1997) yang menjelaskan bahwa variasi genetik pada bakteri *A. hydrophila* tidak hanya menyebabkan variasi terhadap jenis antigenya saja namun juga terhadap besarnya titer antibodi yang terbentuk. Asumsi lainnya dari penelitian Nurhayati (2004) bahwa waktu pemberian *booster* yang kurang tepat dapat mempengaruhi terjadinya perubahan titer antibodi.

Berdasarkan uji titer antibodi, nilai rata-rata tertinggi terjadi pada minggu terakhir penelitian atau minggu ke-4. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ikan yang divaksinasi dengan antigen O *A. hydrophilla* memiliki respon imun adaptif yang lebih tinggi dibanding ikan yang tidak divaksinasi. Hal tersebut

juga dibuktikan oleh Wintoko *et al.* (2013), bahwa vaksin antigen O *A. salmonicida* memberikan pengaruh nyata terhadap pembentukan dan peningkatan produksi titer antibodi pada ikan uji dengan taraf kepercayaan 95%. Peningkatan titer antibodi mengindikasikan adanya respon terhadap pemberian vaksin (antigen) yang diinjeksikan ke dalam tubuh ikan uji.

Pendapat lainya Deghani (2012) menyatakan bahwa empat jenis vaksin akan meningkatkan antibodi secara signifikan pada 21 hari setelah pemberian vaksin. Empat jenis vaksin tersebut antara lain vaksin lipopolisakarida, *formalin killed*, *heat killed* dan vaksin polivalen.

### Uji Reaksi Silang

Uji reaksi silang merupakan uji yang mereaksikan suatu antigen tertentu (bakteri, virus maupun mikroorganisme lain) dengan antibodi secara *in vitro* untuk mengetahui imunogenisitas antigen tersebut (Mulia, 2015). Uji tersebut digunakan untuk mengetahui imunogenisitas dari beberapa strain bakteri *A. hydrophila* yang digunakan dalam pembuatan vaksin. Uji reaksi silang juga digunakan untuk mencari antigen yang mampu bereaksi positif tidak hanya dengan antigen yang sama (satu jenis), namun dapat bereaksi terhadap antigen dari strain yang lain (Mulia, 2012).

Strain bakteri *A. hydrophila* yang digunakan antara lain GPI-02, GL-01, GJ-01, GB-01, GPd-02, GPI-05 GPI-03, GL-02 dan GK-01 sebagai antigen direaksikan dengan strain GPI-03, GL-02 dan GK-01 sebagai antibodi. Ketiga strain tersebut tergolong bakteri yang ganas karena dapat menyebabkan kematian mencapai 100% (Mulia, 2010).

**Tabel 4.7.** Hasil Uji Reaksi Silang

Antibodi	Antigen									Rata-rata
	GPI-02	GPI-03	GL-01	GL-02	GJ-01	GK-01	GB-01	GPd-02	GPI-05	
Serum GK-01	2 <sup>4</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>4</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>4</sup>	2 <sup>4</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>4,67</sup>
Serum GL-02	2 <sup>5</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>4</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>5,55</sup>
Serum GPI-03	2 <sup>6</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>4</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>4</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>5</sup>

Berdasarkan **Tabel 4.7** menunjukkan hasil uji reaksi silang dapat diketahui bahwa vaksin strain GPI-03 dan GL-02 memiliki imunogenisitas yang lebih

tinggi ( $P \geq 2^5$ ) dibandingkan perlakuan lainnya, artinya strain tersebut baik dalam bereaksi terhadap dirinya sendiri maupun bereaksi dengan antigen strain

lainnya. Asumsi tersebut mengacu pada Mulia (2015) menyatakan bahwa titer antibodi pada uji reaksi silang yang dihasilkan  $\geq 2^5$  memiliki kemampuan yang baik dalam melindungi ikan terhadap serangan bakteri *A. hydrophila*. Dengan demikian dapat diketahui bahwa antigen *A. hydrophila* strain GPL-03 dan GL-02 merupakan strain yang baik untuk dijadikan sebagai bahan pembuatan vaksin. Vaksin yang berasal dari strain tersebut akan melindungi ikan lebih baik

terhadap penyakit MAS yang disebabkan bakteri *A. hydrophila*.

### Kualitas Air

Faktor keberhasilan yang harus diperhatikan dalam budidaya ikan salah satunya adalah kualitas air yang meliputi suhu, kandungan oksigen terlarut (DO) dan pH. Kualitas air yang baik akan menentukan kualitas ikan yang dibudidayakan dalam air tersebut.

**Tabel 4.8.** Kisaran Kualitas Air Selama Penelitian

Parameter	Perlakuan	Minggu ke-n					Kisaran Optimal	Sumber Pustaka
		0	1	2	3	4		
Suhu (°C)	P1	26,76	27,23	27,1	26,67	26,83	22-32	BBPBAT (2005)
	P2	26,73	27	27,03	26,67	26,83		
	P3	26,73	27,06	27,17	26,63	26,83	25-33	Ghufron & Kordi (2010)
	P4	26,7	27	27,1	26,63	26,83		
DO (mg/L)	P1	8,27	8,57	8,33	8,67	8,73	>0,3	Rahman <i>et al.</i> (1992)
	P2	8,1	8,5	10,57	8,53	8,73		
	P3	8,27	8,63	8,97	8,57	8,67	>0,1	BBPBAT (2005)
	P4	8,07	8,63	9,97	8,63	8,43		
pH	P1	7,07	7,17	7,1	7,1	7,07	6,5-8,5	Boyd (1990)
	P2	7,13	7,0	7,03	6,97	7,03		
	P3	7,1	7,07	7,1	7,2	7,07	6-9	Wedemeyer (2001)
	P4	7,06	7,07	7,0	7,07	7,03		

Kualitas air selama penelitian berlangsung cenderung berada pada kisaran nilai yang optimal untuk kehidupan ikan agar dapat tumbuh dan berkembang dengan baik. Salah satu parameter kualitas air yang berpengaruh adalah suhu. Suhu pada penelitian setelah dilakukan pengambilan sampel beberapa kali, diperoleh hasil berkisar antara 26-28°C. Kisaran suhu tersebut termasuk suhu yang optimal bagi kehidupan ikan lele dumbo, karena suhu yang baik dan normal untuk pertumbuhan lele dumbo adalah kisaran 25-33°C (Ghufron & Kordi, 2010).

Salah satu parameter yang memberikan pengaruh besar pada perlakuan tersebut adalah kandungan oksigen terlarut. Ikan lele dumbo mampu mentoleransi kadar oksigen terlarut dalam air >1 mg/L (BBPAT, 2005), dan ikan lele dapat tumbuh optimal jika kadar oksigen terlarut >3 mg/L (Rahman *et al.*, 1992). Dalam penelitian ini, kandungan oksigen terlarut cukup tinggi yaitu berada dalam kisaran 8,1-10,57 mg/L sehingga bisa dikatakan optimal untuk pertumbuhan ikan lele.

Kisaran derajat keasaman (pH) air selama penelitian antara 6,9-7,2. Kisaran tersebut masih dalam kondisi yang cukup baik untuk kehidupan dan perkembangan ikan lele dumbo selama pemeliharaan. Hal tersebut berdasar pada penelitian Boyd (1990) yang menyatakan kisaran pH yang baik untuk pemeliharaan ikan lele antara 6,5-8,5 dan menurut Wedemeyer (2001) yang menyatakan kisaran pH yang baik untuk pemeliharaan dan perkembangan ikan lele dumbo antara 6-9.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan sebagai berikut.

1. Vaksin *Aeromonas hydrophila* heat killed berpengaruh secara nyata terhadap peningkatan produksi titer antibodi pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*).
2. Semua perlakuan memiliki nilai yang sama baik dalam merangsang produksi titer antibodi, namun

setelah uji reaksi silang hanya perlakuan GPI-03 dan GL-02 yang memiliki keefektifan imunogenitas sama baik ( $P \geq 5$ ) sehingga terdapat 2 strain yang baik dijadikan bahan pembuatan vaksin.

## SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam skala lapang untuk mengetahui keefektifan vaksin *Aeromonas hydrophila* pada tubuh ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Allah SWT yang telah memberikan kemudahan dan kelancaran dalam melaksanakan penelitian ini hingga selesai tepat pada waktunya. Kemudian kepada seluruh Dosen, Laboran dan teman-teman Prodi Pendidikan Biologi Universitas Muhammadiyah Purwokerto yang telah memberikan banyak bantuan dan masukan dari awal sampai akhir proses penelitian. Serta semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu.

## DAFTAR PUSTAKA

Balai Besar Perikanan Budidaya Air Tawar Sukabumi (BBPBAT). *Budidaya Ikan Lele Sangkuriang*. Jakarta: Agromedia Pustaka, 2005.

Boyd, C.E. *Water Quality in Ponds for Aquaculture*. Alabama: Birmingham Publishing Co, 1990.

Bratawijaya, K.G. *Immunologi Dasar*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2004.

Deghani, S., M. Akhlaghi, & M. Deghani. Efficacy of Formalin-Killed, Heat Killed and Lipopolysaccharide Vaccines Against Motile Aeromonads Infection in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Animal Health Unit Global Veterinaria* 9, 2012, pp (4): 409-415.

Ghufron, M. & H. Kordi. *Panduan Lengkap Memelihara Ikan Air Tawar di Kolam Terpal*. Yogyakarta: Lily Publisher, 2010.

Kamiso, H.N. Uji Lapang Penggunaan Vaksin *Aeromonas hydrophila* Pada Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Perikanan UGM (GMU J. Fish. Sci)* I, 1997, pp (2): 17-24.

Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2013. Laporan Tahunan Direktorat Produksi Tahun 2013. Direktorat Jendral Perikanan Budidaya Jakarta. Diakses dari [www.djpb.kekp.go.id](http://www.djpb.kekp.go.id). Diakses pada tanggal 20 juni 2016.

Lukistyowati, I & Kurniasih. Pelacakan Gen Aerolysin dari *Aeromonas hydrophila* pada Ikan

Mas yang diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih. *Jurnal Veteriner* 13, 2012, pp (1): 43-50.

Mulia, D.S. Isolasi, Karakterisasi, dan Identifikasi Bakteri *Aeromonas sp.* Penyebab Penyakit Motile Aeromonas Septicemia (MAS) pada Gurami. *Jurnal Sains Akuatik* 13, 2010, pp (2): 9-16.

Mulia, D.S. *Vaksinasi Lele Dumbo*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar, 2012..

Mulia, D.S., A. Khusniah, & H. Maryanto. Potential Immunogenicity of Bacteria *Aeromonas hydrophila* Strain GPI-05 and GPI-02 Strains As A Candidate Vaccines. *Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan* I, 2015, pp (1): 335-345.

Nurhayati, A.P.D. Pengaruh Interval *Booster* Terhadap Produksi Antibodi pada Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Divaksin Debris *Aeromonas hydrophila*. *Thesis*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada, 2004.

Prawesjeki, M. Imunogenisitas Bakteri *Aeromonas hydrophila* Strain GPI-02 dan GBI-03 terhadap Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Skripsi*. Purwokerto: Universitas Muhammadiyah Purwokerto. 2015.

Rahman M. M., Varga I., & Chowdury S. N. *Manual of African Magur (Clarias gariepinus) Culture in Bangladesh*. FAO Corporate Repository. Bangladesh: Institutional Stenghthening in The Fisheries Sector, 1992.

Steel, R.G.D. & J.H. Torrie. Prinsip dan Prosedur Statistik. (*Terjemahan Principle and procedure of Statistics* Oleh B. Sumantri). Jakarta: Gramedia pustaka utama, 1993.

Thomas, P. *Bacteria and Viruses*. Lucent Library of Science and Technology. United States of America, 2004, p 225–230.

Wedemeyer, G.A. *Fish Hatchery Management, 2nd Edition*. Bethesda, Maryland: American Fisheries Society, 2001.

Wintoko, F., A. Setyawan, S. Hudaidah, & A. Mahrus. Imunogenisitas Heat Killed Vaksin Inaktif *Aeromonas salmonicida* pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan* 2, 2013. pp (1): 205-210.

