

## **EFEKTIVITAS VAKSIN INAKTIF *Aeromonas salmonicida* TERHADAP TOTAL LEUKOSIT DAN AKTIFITAS FAGOSITOSIS PADA IKAN KOI (*Cyprinus carpio*)**

Ciptaning Weargo Jati\*), Huriyatul Fitriyah Noor<sup>(1)</sup>, Hilma Putri Fidyandini<sup>(2)</sup>

Jl. Prof. Dr. Ir. Sumantri, Brojonegoro No.1, Gedong Meneng, Kec. Rajabasa, Kota Bandar Lampung, Lampung 35141

\*)[ciptaning.jati@fp.unila.ac.id](mailto:ciptaning.jati@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 pembanding yaitu kontrol negatif dan kontrol positif. Parameter yang dipakai uji viabilitas, Total Leukosit, Aktivitas Fagositosis, gejala klinis, 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). Hasil penelitian ini menunjukkan peningkatan pada perlakuan C ( $10^8$ ) berpengaruh paling tinggi dalam mencegah infeksi bakteri patogen *A. salmonicida* ditandai dengan peningkatan total leukosit sebelum dan sesudah infeksi sebesar 55,83 dan 59,43 sel/ml. Nilai aktivitas fagositosis sebesar 34,09 dan 31,88, dan pada gejala klinis ikan mengalami penyembuhan setelah hari ke 8-14 setelah infeksi.

**Kata kunci:** *Vaksin inaktif A. salmonicida, ikan koi (C. carpio), uji viabilitas, total leukosit, aktivitas fagositosis, RPS.*

### **ABSTRACT**

*Aeromonas salmonicida* is a bacterium that causes fish to suffer bleeding, muscle lesions, intestinal inflammation, an enlarged spleen, and death in goldfish populations. It is very detrimental to fish farming because of its fast attack and because of its ability to kill cultivated animals and reduce production levels, so fish that are seriously attacked by bacteria must be destroyed immediately. Based on this, a more natural prevention approach is needed to treat diseases caused by *A. salmonicida* bacteria, one of which is the use of vaccines. This study used independent variables in the form of inactivated *A. salmonicida* vaccine administration at a dose of

A:  $10^4$  cells/ml; B:  $10^6$  cells/ml; C:  $10^8$  cells/ml; and D: 1010 cells/ml with three replications and two comparison controls, namely a negative control and a positive control. With the test parameters of viability, total leukocytes, phagocytosis activity, clinical symptoms, and water quality. Tests for antibody titers, clinical symptoms, RPS (Relative Percent Survival), and water quality were carried out after 1–14 days from the challenge test and administration of vaccines 1 and 2 (booster). The results of this study showed that the increase in treatment C ( $10^8$ ) had the highest effect in preventing infection with the pathogen *A. salmonicida* bacteria, characterized by an increase in total leukocytes before and after infection of 55.83 and 59.43 cells/ml, respectively. The values of phagocytosis activity were 34.09 and 31.88, and in clinical symptoms, the fish experienced healing after 8–14 days after infection.

**Keywords:** *A. salmonicida* inactivated vaccine, koi fish (*C. carpio*), viability test, total leukocytes, phagocytosis activity, RPS.

## PENDAHULUAN

Indonesia memiliki potensi ikan hias yang sangat beragam untuk dikembangkan yang terdiri dari 400 spesies dari 1100 spesies ikan hias air tawar yang telah diperjualbelikan secara global, namun saat ini tercatat baru 90 spesies yang telah dapat dibudidayakan oleh masyarakat (DJPB 2015). Ikan Hias memiliki potensi peningkatan produksi disetiap tahunnya, terkhusus pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*). DJPB (2016), produksi ikan hias tahun 2017 mencapai 2,1 miliar ekor, dimana ikan koi merupakan proporsi tertinggi ikan hias Indonesia tahun 2015-2019 dengan produksi yang dihasilkan mencapai 36%. Tetapi dalam pengoptimalan produksi budidaya ikan koi, terdapat kendala akibat serangan penyakit. Salah satu penyakit yang banyak menyerang

ikan koi adalah penyakit bacterial *A. salmonicida*.

*A. salmonicida* di Indonesia pada akhir tahun 1980 terjadi kematian ikan mas sebanyak 125 ribu ekor di daerah budidaya di Jawa Barat. Kejadian tersebut menyebabkan penurunan produksi dan kerugian berkisar 4 milyar rupiah (Trilia *et al.*, 2014). *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 dan 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. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan imunogenitas tinggi pada ikan, ditandai dari titer antibodi yang tinggi (Setyawan *et al.*, 2012). Imunostimulan juga dilaporkan efektif meningkatkan kekebalan non-spesifik ikan terhadap penyakit (Roza *et al.*, 2004; Zafran *et al.*, 2006).

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 mikroorganisme 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). Efektivitas vaksinasi yang memadai mampu menurunkan mortalitas ikan tertentu dari serangan penyakit (Roza *et al.*, 2004). Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektivitas vaksin inaktif *A. salmonicida* pada ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang dilihat melalui total leukosit, plasma darah, *respiratory bust* dan histologis.

## **METODE PENELITIAN**

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen, dimana

metode ini digunakan untuk menguji hubungan sebab akibat melalui pemanipulasian variabel *independent* dan perubahan-perubahan yang diakibatkan oleh pemanipulasian tersebut. Tahapan penelitian: 1). Persiapan Wadah; 2) Adaptasi Ikan Uji; 3). Pemuatan Vaksin; 4). Vaksinasi; 5). Uji Tantang; 6). Uji Kualitas Vaksin. Parameter penelitian meliputi: 1). Total Leukosit; 2). Fagositosis; 3). Gejala Klinis; dan 4). Kualitas Air. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dan 3 kali ulangan dengan kontrol negatif (tanpa vaksinasi). Penelitian ini menggunakan dosis vaksin sebagai berikut: perlakuan A:  $10^4$  sel/ml; B:  $10^6$  sel/ml; C:  $10^8$  sel/ml; B:  $10^{10}$  sel/ml; kontrol.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Parameter Imun Non Spesifik

#### 1. Total Leukosit

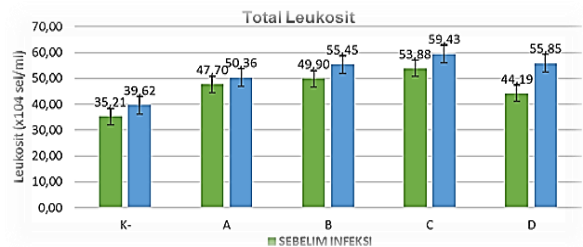
Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian vaksin inaktif *A.salmonicida* bersifat imunogenik sehingga dapat meningkatkan respon pertahanan seluler berupa peningkatan total leukosit. Utami *et al.* (2013) berpendapat bahwa sifat imunogenik dari vaksin pada dosis yang sesuai

mampu peningkatan total leukosit lebih tinggi pada ikan yang divaksinasi sehingga kekebalan tubuh ikan akan meningkat.

**Tabel 1.** Lekosit ikan Koi ( $10^4$  sel/ml)

Perlakuan	Pra Infeksi Bakteri				Post Infeksi Bakteri			
	Ulangan			Rata-rata $\pm$ SD	Ulangan			Rata-rata $\pm$ SD
	1	2	3		1	2	3	
K	35,0	34,7	35,8	105,6 $\pm$ 35,2	39,7	39,0	40,0	118,8 $\pm$ 39,6
A	47,5	47,7	47,7	143,1 $\pm$ 47,7	49,8	48,9	52,2	151,0 $\pm$ 50,3
B	49,6	49,9	50,0	149,7 $\pm$ 49,9	55,8	55,1	55,3	166,3 $\pm$ 55,4
C	53,5	53,8	54,2	161,6 $\pm$ 53,8	60,2	59,3	58,6	178,3 $\pm$ 59,4
D	44,3	44,0	44,1	132,5 $\pm$ 44,1	56,3	55,3	55,9	167,5 $\pm$ 55,8

Keterangan : Dosis K = 0 sel/ml; A =  $10^4$  sel/ml; B =  $10^6$  sel/ml; C =  $10^8$  sel/ml; D =  $10^{10}$  sel/ml



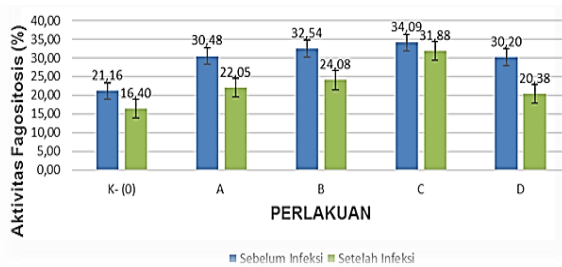
**Gambar 1.** Histogram Total Leukosit Sebelum dan Sesudah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida* dengan Kepadatan  $10^6$  sel/ml

Nilai total leukosit mengalami peningkatan dapat disebabkan karena adanya proses vaksinasi. Hal ini berkaitan dengan fungsi sel darah putih sebagai alat pertahanan. Kondisi ini menunjukkan bahwa pemberian vaksin inaktif *A. salmonicida* bersifat imunogenik sehingga dapat meningkatkan respon pertahanan seluler berupa peningkatan total leukosit. Utami *et al.* (2013) berpendapat bahwa sifat imunogenik dari vaksin pada dosis yang sesuai

mampu meningkatkan total leukosit lebih tinggi pada ikan yang divaksinasi sehingga kekebalan tubuh ikan akan meningkat.

## 2. Aktivitas Fagositosis

Perubahan nilai aktivitas fagositosis mengindikasikan bahwa vaksin inaktif *A. salmonicida* dapat meningkatkan kinerja respon imun ikan yang terinfeksi bakteri. Playfair dan Chain (2009) interaksi antara sel fagosit dan imun adaptif misalnya antibodi dapat memperkuat fagositosis.



**Gambar 2.** Histogram Aktivitas Fagositosis Sebelum dan Sesudah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida* dengan Kepadatan  $10^8$  sel/ml.

Nilai terbaik didapatkan pada perlakuan C dan penurunan pada perlakuan D disebabkan karena semakin tingginya dosis vaksin yang diberikan mengakibatkan lambatnya proses pengenalan antigen atau vaksin oleh antibodi. Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa pemberian

vaksin inaktif *A. salmonicida* mampu meningkatkan aktivitas fagositosis. Pada parameter total leukosit dan aktivitas fagositosis sama-sama memiliki nilai tertinggi pada perlakuan C ( $10^8$ ). Marentek *et al.*, (2013) mengungkapkan bahwa semakin tinggi jumlah leukosit, maka semakin tinggi pula aktivitas fagositosis.

Ikan koi yang terbentuk dengan ditandai oleh rekasi pewarnaan antibodi anti *A. salmonicida*, menunjukkan bahwa sitoplasma jaringan ginjal tersebut mempunyai sistem kekebalan terhadap bakteri *A. salmonicida* setelah dilakukan uji tantang pasca vaksinasi.

## 3. Gejala Klinis

Pada hari ke 4 setelah uji tantang ikan mengalami gejala klinis seperti warna tubuh memudar, sisik mengelupas terjadi 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 dari 60% sehingga layak untuk dijadikan vaksin.

#### 4. Kualitas Air

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 5.

**Tabel 2.** Rata-rata Kualitas Air Selama Pemeliharaan

Parameter Kualitas Air	Kisaran	Partosuwiryo dan Warseno (2011)
	Parameter Kualitas Air pada Perlakuan	
Suhu	26-27°C	25-30°C
pH	7,9-8	6,7-8,2
DO	5,85-6,29 ppm	>5 ppm

#### PENUTUP

##### Kesimpulan

Kesimpulan dalam penelitian efektivitas vaksin inaktif *A. salmonicida* adalah:

1. Metode pembuatan vaksin dengan pemberian formalin 2% dapat memberikan nilai viabilitas vaksin sebesar 0%.
2. perlakuan C ( $10^8$ ) berpengaruh paling baik dalam meningkatkan aktifitas fagositosis dan Total Leukosit ikan koi (*Cyprinus carpio*)

yang telah diinfeksi menggunakan *A. salmonicida*.

##### Saran

Perlu adanya penelitian lanjutan untuk menguji hasil vaksin inaktif secara secara molekuler bahwa vaksin ini dapat digunakan untuk aplikasi.

##### DAFTAR PUSTAKA

- Alifuddin, M. 2002. Imunostimulan Pada Hewan Akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 1(2):87-92.
- Austin, B. And D. A. Austin. 2007. *Bacterial Fish Pathogens Diseases in Farmed and Wild Fish*. Books In Aquatic and Marine Sciences, Chichester UK Germany.
- DJPB. Direktorat Jendral Perikanan Budidaya. 2015. Laporan kinerja triwulan II tahun 2015. Jakarta: Direktorat Jendral Perikanan Budidaya. Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- DJPB. Direktorat Jendral Perikanan Budidaya. 2016. Realisasi dan Capaian Anggaran Tahun 2016. Jakarta: Direktorat Jendral Perikanan Budidaya.
- Grisez, L. and Z. Tan. 2005. Vaccine Development for Asian Aquaculture. *Disease In Asian Aquaculture*, 5 : 483- 439
- Hazzulli, Nurma Jana., Agus Setyawan dan Esti Harpeni. 2015. Imunogenitas Kombinasi Vaksin Inaktif Whole Cell *Aeromonas salmonicida* dan Vitamin C pada Ikan (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan* 3 (2): 2302-3600.

- Lukistyowati, Iesje. 2012. Studi Efektifitas Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) untuk Mencegah Penyakit *Edwardsiellosis* pada Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*). *Berkala Perikanan Terubuk*. 40(2): 56-74.
- Marentek, G. A; Henky, M; dan Sammy, N. J. L. 2013. Evaluation of The Use of Garlic (*Allium sativum*) in Enhancing Nonspecific Immune Response and Growth of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Budidaya Perairan*. 1 (1): 1-7.
- 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. 2013. Vaksin Koktail Sel Utuh untuk Pencegahan Penyakit Mycobacteriosis dan Motile *Aeromonas* Septicemia Pada Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy*). Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Tesis tidak dipublikasikan.
- 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.
- Setyawan, A., Hudaidah, S., Ranopati, Z., dan Sumino. 2012. Imunogenisitas Vaksin Inaktif Whole cell *A. Salmonicida* pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Aquasains*, 1(1): 17-21.
- Tang, Xiaoqian., Qin, Yinghui., Sheng, X., Jing, X., Wenbin, Z. 2017. Characterization of CD3 $\beta$  T lymphocytes of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) and its response after immunization with formalin-inactivated *Edwardsiella tarda*. *Fish & Shellfish Immunology* 63 (2017) 220-227.
- Utami, Saras Wati. 2013. Warta Ekspor, Peluang Ekspor Ikan Hias. Ditjen PEN/MJL,25/V/2013. Djpen.kemendag.go.id. Tradexpo Indonesia. Hlm 3-7.
- Wintoko, Fredi., Agus Setyawan., Siti Hudaidah dan Mahrus Ali. 2013. Imunogenitas *Heat Killed* Vaksin Inaktif *Aeromonas salmonicida* Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan* 2 (1): 2302-3600.
- Yanuhar, Uun. 2011. Respon Immun Sel Interleukin -4 (IL-4) Pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) Yang Dipapar Protein Immunogenik *Vibrio Harveyi*. *Jurnal Kelautan*. 4(2): 25-33.
- Zafran, Roza, D., & Johnny, F. 2006. Produksi dan Uji Efektivitas Immunostimulan dari Bakteri dan Jamur untuk Meningkatkan Imunitas Benih Ikan Kerapu. Laporan Penelitian Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Pantai Gondol TA 2006, 12 hlm.