

ID 13718_Anis Zubaidah

By Jurnal Riset Akuakultur

WORD COUNT

5054

TIME SUBMITTED

29-MAY-2024 01:39PM

PAPER ID

109287783

EFIKASI VAKSIN *Aeromonas hydrophila* TERHADAP IMUNITAS IKAN LELE SANGKURIANG (*Clarias gariepinus*) DENGAN METODE INFILTRASI HIPEROSMOTIK

ABSTRAK

Kendala yang sering dialami pembudidaya ikan lele salah satunya yaitu serangan *motile Aeromonas septicemia* (MAS). Vaksinasi melalui perendaman merupakan cara yang efektif untuk meningkatkan sistem imun pada tubuh ikan lele, namun kurang memberikan hasil yang optimal sehingga perlu adanya penambahan metode infiltrasi hiperosmotik untuk memaksimalkan penyerapan vaksin. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kisaran salinitas yang baik dalam memaksimalkan penyerapan vaksin *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental rancangan acak lengkap dengan lima taraf perlakuan dan tiga kali ulangan, antara lain kontrol negatif (Kn), kontrol positif (Kp), perendaman salinitas 3 ppt (P1), perendaman salinitas 6 ppt (P2), dan perendaman salinitas 9 ppt (P3) pada ikan lele berukuran 12-15 cm. Parameter yang diamati antara lain titer antibodi, *relative percent survival*, *survival rate* (SR), total eritrosit, total leukosit, kualitas air, dan gejala klinis. Hasil penelitian menunjukkan nilai tertinggi yaitu pada P2 (6 ppt) dengan nilai titer antibodi sebesar $8,0 \pm 0,0$, *relative percent survival* 100%, *survival rate* 100%, dan total eritrosit $2,80 \times 10^6$ sel mm^{-3} , namun total leukosit pada P2 (6 ppt) menunjukkan nilai terendah karena leukosit melawan serangan patogen sehingga jumlah sel menurun. Disimpulkan bahwa perendaman dalam salinitas 6 ppt merupakan salinitas terbaik pada ikan lele dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan lainnya karena proses penyerapan vaksin terjadi secara maksimal sehingga dapat meningkatkan sistem imun ikan lele.

KATA KUNCI: osmoregulasi; perendaman; salinitas; vaksinasi

ABSTRACT: *Efficacy of Aeromonas hydrophila Vaccine on Immunity of Sangkuriang Catfish (Clarias gariepinus) Using the Hyperosmotic Infiltration Method*

One of the obstacles often experienced by catfish farmers is attacks by the motile Aeromonas septicemia (MAS). Vaccination through immersion is an effective way to improve the immune system in the body of catfish, but it does not provide optimal results so it is necessary to add a hyperosmotic infiltration method to maximize vaccine absorption. This study aimed to determine an optimum salinity range to maximize the absorption of the Aeromonas hydrophila vaccine in catfish. This study used a completely randomized design experimental method with five treatment levels and three replications, including negative control (Kn), positive control (Kp), 3 ppt salinity immersion (P1), 6 ppt salinity immersion (P2), and 9 ppt salinity immersion (P3) in catfish sizing 12-15 cm. The parameters observed included antibody titer, relative percent survival, survival rate (SR), total erythrocytes, total leukocytes, water quality, and clinical symptoms. The results of the study showed that the highest value was at P2 (6 ppt) with an antibody titer value of 8.0 ± 0.0 , relative percent survival 100%, survival rate 100%, and total erythrocytes 2.80×10^6 cells mm^{-3} , while total leukocytes in P2 (6 ppt) showed the lowest value because leukocytes fought against pathogen attacks so that the number of cells decreased. It was concluded that immersion in 6 ppt salinity was the best salinity for catfish and was significantly different ($P < 0.05$) from other treatments because the vaccine absorption process occurred optimally so that it could improve the catfish's immune system.

KEYWORDS: immersion; osmoregulation; salinity; vaccination

Ikan lele merupakan salah satu komoditas sumber protein hewani yang banyak diminati di Indonesia. Jumlah permintaan ikan lele cukup tinggi, namun produksi perikanan budidaya nasional masih mengalami kendala akibat serangan penyakit *motile Aeromonas septicemia* (MAS). *Motile Aeromonas septicemia* (MAS) disebabkan oleh infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Penyakit ini biasa menyerang ikan air tawar, seperti ikan nila, ikan gurami, dan ikan lele. Menurut Mastuti *et al.* (2017), serangan bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan kematian hingga 100% dalam kurun waktu 3 hari. Pengobatan penyakit MAS dengan menggunakan obat serta bahan kimia sudah mulai ditinggalkan, karena pemberian antibiotik terus menerus dapat mengakibatkan resistensi bakteri terhadap jenis antibiotik tersebut. Selain itu, efek samping pemberian antibiotik dapat meninggalkan residu yang nantinya akan membahayakan manusia dan lingkungan (Azhar & Wirasisya, 2019). Maka dari itu vaksinasi pada ikan perlu dilakukan sejak dini untuk mencegah terjadinya infeksi penyakit khususnya bakteri *A. hydrophila* pada ikan lele .

Vaksinasi merupakan cara yang efektif dan efisien untuk mengobati penyakit pada ikan serta meningkatkan sistem imun tubuh ikan Sukenda *et al.* (2015). Metode vaksinasi dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu injeksi, oral, dan perendaman. Vaksinasi dengan cara injeksi lebih efektif untuk ikan ukuran tertentu dan sulit dilakukan pada benih. Vaksinasi oral dalam pakan merupakan metode yang memerlukan antigen dalam jumlah besar dan proteksi yang ditimbulkan bersifat lemah. Vaksinasi dengan metode perendaman mudah dilakukan dalam skala besar, biaya relatif murah, tingkat stres ikan yang diberi vaksin relatif rendah, dan mudah dilakukan pada ikan berukuran benih. Metode vaksinasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode perendaman.

Modifikasi cara perendaman perlu dikembangkan agar penyerapan vaksin dapat terjadi secara optimal, metode yang dapat digunakan adalah infiltrasi hiperosmotik. Menurut Firdausi *et al.* (2018), dalam penelitiannya pada ikan nila menyatakan bahwa

metode infiltrasi hiperosmotik dapat memperbaiki kinerja sistem imun dengan memperbaiki proteksi imunitas maternal. Metode ini menggunakan media perlakuan hipertonik yaitu konsentrasi cairan lingkungan lebih tinggi dibandingkan konsentrasi cairan tubuh ikan dengan memberikan kejutan salinitas. Akibatnya, membran-membran di permukaan tubuh terbuka dan cairan tubuh keluar kemudian digantikan dengan cairan yang mengandung vaksin. Prananingtyas *et al.* (2019) menyebutkan bahwa ikan lele masih mampu hidup pada salinitas 0-9 ppt. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian perendaman ikan dalam salinitas 3, 6, dan 9 ppt sebelum vaksinasi sehingga didapatkan salinitas yang optimum dalam meningkatkan penyerapan vaksin. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas vaksin dengan metode infiltrasi hiperosmotik dengan salinitas berbeda untuk mencegah infeksi bakteri *A. hydrophila* pada ikan lele.

BAHAN DAN METODE

Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan September-Oktober 2022 di Laboratorium Perikanan, Universitas Muhammadiyah Malang. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*) dengan ukuran bobot $15 \pm 1,2$ g dan panjang $12 \pm 0,56$ cm sebanyak 150 ekor yang diperoleh dari pembudidaya ikan di Desa Tegalgondo, Kabupaten Malang, Provinsi Jawa Timur.

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap. Penelitian ini terdapat lima taraf perlakuan dengan masing-masing tiga ulangan sehingga total data yang diamati adalah 15 unit. Setiap akuarium berisi 10 ekor ikan lele.

Perlakuan yang diberikan yaitu sebagai berikut:

Kn = Tanpa vaksin + tanpa ujiantang

Kp = Tanpa vaksin + ujiantang

P1 = Perendaman salinitas 3 ppt + vaksin + ujiantang

P2 = Perendaman salinitas 6 ppt + vaksin + ujiantang

P3 = Perendaman salinitas 9 ppt + vaksin + ujiantang

Penyiapan Bakteri Patogen dan Vaksin

Sebelum pembuatan vaksin sel utuh, bakteri *A. hydrophila* dikultur pada media *trypticase soy agar* (TSA) yang ditambahkan antibiotik rifampisin $15 \mu\text{g L}^{-1}$ sebagai penanda (Hamka *et al.*, 2021). Bakteri yang tumbuh pada media tersebut selanjutnya dikultur ke dalam media *trypticase soy broth* (TSB), dan diuji Postulat Koch, yaitu dengan menyuntikkan 0,1 mL suspensi *A. hydrophila* secara intramuskular pada ikan lele sehat. Metode ini diulang sebanyak dua kali. Bakteri diisolasi dari bagian yang luka, selanjutnya bakteri ditumbuhkan dengan metode gores cawan pada media *nutrient agar* (NA) yang diberi antibiotik rifampisin sebanyak $15 \mu\text{g L}^{-1}$, lalu dikultur selama 24 jam pada suhu 37°C . Pembuatan vaksin dilakukan dengan cara mengkultur bakteri secara bertingkat pada suhu 37°C pada *nutrient broth* (NB) pada kecepatan 120 rpm sehingga didapatkan 100 mL bakteri (Azzahra *et al.*, 2021). Biakan bakteri dengan volume 100 mL ditambahkan *neutral buffer formaline* sebanyak 3% dari volume biakan dan diinkubasi kembali selama 24 jam. Bakteri dipanen dengan cara disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm selama 30 menit. Endapan pelet bakteri kemudian dicuci menggunakan 100 mL *phosphate buffer saline* (PBS) sebanyak tiga kali dan disentrifugasi pada kecepatan 5.000 rpm selama 15 menit. Endapan pelet kemudian ditambahkan kembali PBS hingga 100 mL dan disimpan pada *refrigerator*, dan selanjutnya disebut sebagai vaksin sel utuh (Reynalta *et al.* (2018). Vaksin yang telah jadi tersebut selanjutnya diuji viabilitasnya dengan cara ditumbuhkan dengan metode gores cawan pada media NA yang diberi antibiotik rifampisin sebanyak $15 \mu\text{g L}^{-1}$, jika tidak terjadi pertumbuhan bakteri setelah 24 jam pada media tersebut, vaksin aman digunakan (Suprpto *et al.*, 2017).

Vaksinasi Ikan Uji dan Uji Tantang

Sebelum dilakukan vaksinasi, ikan terlebih dahulu direndam dalam media bersalinitas (air tawar ditambahkan dengan garam grosok sesuai dengan perlakuan) 3, 6, dan 9 ppt selama 5 menit dengan padat tebar 2 ekor L⁻¹. Selanjutnya ikan dipindahkan dalam larutan vaksin dengan perbandingan 3 mL dalam 1 L air tawar selama 30 menit dengan padat tebar 5 ekor L⁻¹ (Hidayatullah *et al.* 2022). Uji tantang dilakukan pada hari ke-15 (H15) pascavaksinasi. Uji tantang dilakukan dengan menginjeksikan 0,1 mL bakteri *A. hydrophila* per ekor dengan kepadatan bakteri 10⁷ CFU mL⁻¹ secara intramuskular. Setelah uji tantang, ikan dipelihara selama 15 hari (H30).

Pengukuran Total Eritrosit dan Leukosit

Pengamatan total eritrosit mengacu pada Zissalwa *et al.* (2020), dilakukan dengan mengambil sampel darah menggunakan pipet haemocytometer berbulir merah sampai skala 0.5, kemudian menghisap larutan Hayem sampai skala 101, menghomogenkan sampel dengan cara menggoyang pipet membentuk angka 8. Satu sampai tiga tetes pertama dibuang, selanjutnya sampel diteteskan ke dalam haemocytometer dan ditutup dengan kaca penutup, kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Perhitungan dilakukan pada lima kotak kecil haemocytometer dengan faktor pengenceran 200x. Rumus 1 merupakan rumus perhitungan total eritrosit menurut Firly (2015) yaitu:

$$\text{Eritrosit} = (A/N) \times (1/V) \times Fp \dots\dots\dots (1)$$

- Keterangan:
A : \sum sel terhitung
N : \sum kotak haemocytometer yang diamati
V : Volume kotak haemocytometer
Fp : Faktor pengenceran

Pengamatan total leukosit dilakukan dengan mengambil sampel darah menggunakan pipet haemocytometer berbulir putih sampai skala 0.5, kemudian menghisap larutan Turk

sampai skala 11, menghomogenkan larutan dengan cara menggoyangkan dengan membentuk angka 8. Membuang 1-3 tetesan pertama, selanjutnya meneteskan sampel ke dalam *haemocytometer* dan menutupnya dengan kaca penutup, kemudian sampel diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Perhitungan dilakukan pada empat kotak besar *haemocytometer* dengan faktor pengenceran 20x menggunakan rumus 2 sebagai berikut:

$$\text{Leukosit} = (A/N) \times (1/V) \times Fp \dots\dots\dots (2)$$

Keterangan:
A : Σ sel terhitung
N : Σ kotak *haemocytometer* yang diamati
V : Volume kotak *haemocytometer*
Fp : Faktor pengenceran

Pengukuran Titer Antibodi

Pengamatan titer antibodi mengacu pada Mulia *et al.* (2015) untuk mengevaluasi efikasi vaksin yang diberikan pada ikan lele. Pengamatan titer antibodi dilakukan dengan mengambil sampel darah kemudian ¹ disentrifugasi dengan kecepatan 3.500 rpm selama 5 menit. Setelah serum terpisah dengan sel darah, serum dipindahkan ke tabung *ependorf* ¹⁰ selanjutnya disimpan dalam *refrigerator* pada suhu 4°C untuk pengamatan titer antibodi. Pengukuran titer antibodi dilakukan dengan mengambil larutan PBS sebanyak 25 μ L dan dimasukkan ke dalam *microplate* pada sumur 2-12, selanjutnyadimasukkan serum darah pada sumur 1 dan 2 sebanyak 25 μ L, kemudian dilakukan pengenceran bertingkat dari sumur ke-2 hingga sumur ¹ ke-11. Bakteri sebanyak 25 μ L dimasukkan ke dalam sumur 1-12, campuran dihomogenkan dengan cara menggoyangkan *microplate* secara perlahan dan selanjutnya disimpan selama 24 jam. Titer antibodi dapat dilihat pada sumur terakhir yang masih ditemukan reaksi aglutinasi yaitu berupa adanya perubahan warna berwarna putih keruh.

Pengamatan *Relative Percent Survival* dan Tingkat Kelulushidupan

Relative percent survival (RPS) merupakan nilai proporsi mortalitas antara kelompok

ikan yang divaksin dengan kontrol selama periode ujiantang (*challenge*). *Relative percent survival* dihitung untuk mengetahui efektivitas vaksin yang diberikan pascaujiantang. Rumus perhitungan RPS (rumus 3) mengacu pada penelitian Tauhid (2015):

$$RPS = \left(1 - \frac{\text{Persentase mortalitas perlakuan}}{\text{Persentase mortalitas kontrol}}\right) \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

Survival rate (SR) atau tingkat kelulushidupan dihitung berdasarkan persentase perbandingan jumlah ikan yang hidup diakhir penelitian dengan jumlah ikan pada saat awal penebaran. Rumus perhitungan SR (rumus 4) mengacu pada penelitian Hidayatullah *et al.* (2022):

$$SR = \frac{\text{Jumlah ikan hidup}}{\text{Jumlah populasi}} \times 100\% \dots\dots\dots (4)$$

1 Pengamatan Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis diamati setiap hari pascaujiantang hingga akhir pemeliharaan (H30). Gejala klinis yang diamati meliputi respons terhadap pakan, tingkah laku serta patologi makroskopis kulit dan sirip ikan lele.

Pengukuran Kualitas Air

1 Pengukuran suhu dilakukan setiap hari pada pukul 07:00 dan 17:00 WIB. Pengukuran pH dan oksigen terlarut dilakukan sebanyak enam kali selama pemeliharaan, yaitu setiap pergantian air.

Analisis Data

7 Hasil pengamatan kemudian ditabulasi dengan Microsoft Excel dan dianalisis secara statistik setiap waktu pengamatan. Analisis data menggunakan *one way-ANOVA* melalui program SPSS versi 16 dengan selang kepercayaan 95%. Perbedaan antarperlakuan

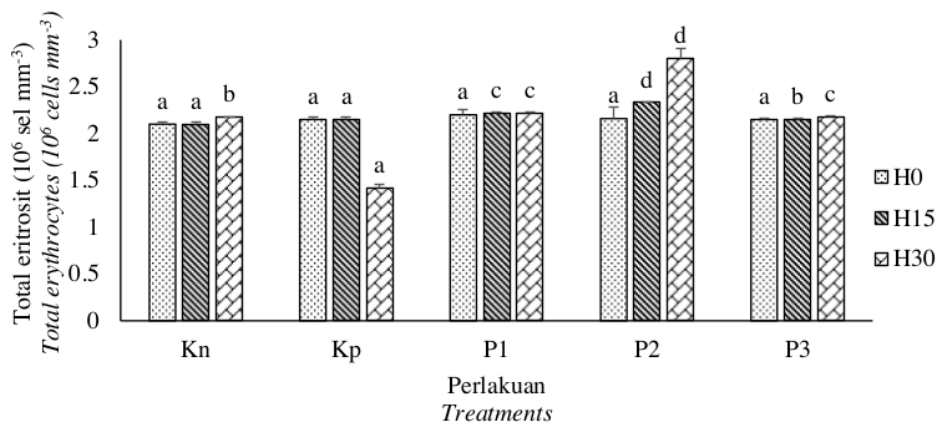
dianalisis dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Eritrosit dan Leukosit

Hasil pengukuran jumlah total eritrosit pada awal penelitian sampai akhir berkisar antara $1,42 \pm 0,03$ hingga $2,80 \pm 0,11 \times 10^6$ sel mm^{-3} . Total eritrosit tersebut menunjukkan nilai yang normal untuk ikan lele. Menurut Tiamiyu *et al.* (2019), kisaran normal total eritrosit pada ikan lele, yaitu $1,5-2,9 \times 10^6$ sel mm^{-3} . Total eritrosit pada perlakuan P1, P2, dan P3 menunjukkan hasil yang berbeda. Hal ini diduga karena adanya perbedaan perendaman salinitas yang diberikan sebelum vaksinasi, sehingga berpengaruh terhadap penyerapan vaksin. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa pengukuran total eritrosit pada awal penelitian (H_0) tidak berbeda nyata antarperlakuan ($P > 0,05$) dengan nilai berkisar antara $2,13 \pm 0,02$ hingga $2,29 \pm 0,02 \times 10^6$ sel mm^{-3} , namun setelah perendaman dalam media bersalinitas sebelum vaksinasi memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap total eritrosit. Nilai total eritrosit paling tinggi terdapat pada perlakuan P2 (6 ppt) hari ke-30 yaitu $2,80 \pm 0,11 \times 10^6$ sel mm^{-3} dan paling rendah terdapat pada perlakuan kontrol positif hari ke-30 yaitu $1,42 \pm 0,03 \times 10^6$ sel mm^{-3} . Rendahnya total eritrosit pada perlakuan kontrol positif diduga karena *A. hydrophila* telah menginfeksi ikan lele sehingga terjadi hemoragi pada tubuh ikan yang menyebabkan pendarahan dan nilai total eritrosit menurun. Hal ini selaras dengan pernyataan Cerlina *et al.* (2021) yang menyatakan bahwa penurunan sel darah merah diduga akibat ikan mengalami anemia yang ditandai dengan adanya pendarahan karena *A. hydrophila* memproduksi eksotoksin berupa hemolisin. Hemolisin merupakan enzim yang mampu melisiskan sel-sel darah merah dan membebaskan hemoglobinnya. Nilai eritrosit pada perlakuan P1, P2, dan P3 masih dalam kisaran normal pascainfeksi. Hal ini menunjukkan bahwa vaksin terserap dengan baik sehingga sistem imun tubuh ikan dapat bekerja lebih optimal dan memproduksi eritrosit lebih banyak untuk menggantikan sel eritrosit yang keluar akibat pendarahan. Nilai total eritrosit dapat dilihat

pada Gambar 1.

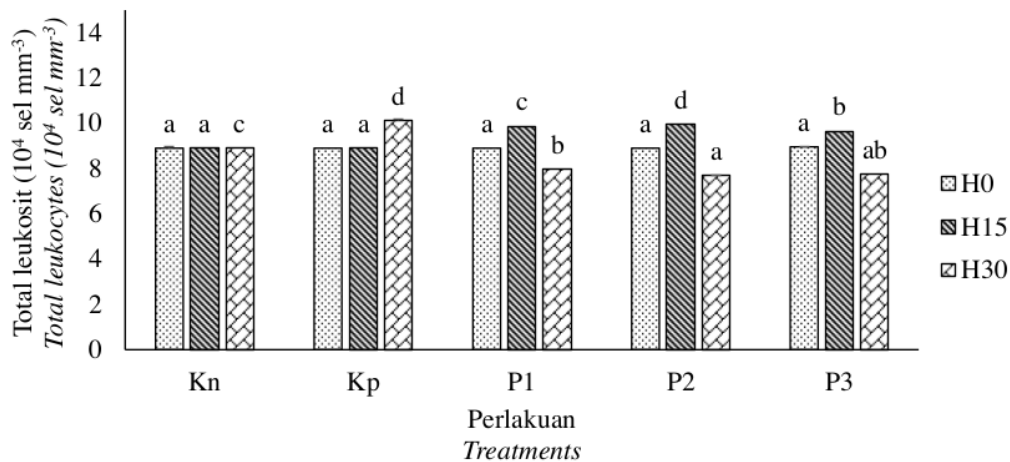


Gambar 1. Total eritrosit pada ikan lele yang diberi perlakuan vaksin dengan metode infiltrasi hiperosmotik. Kn = tanpa vaksin + tanpa uji tantang; Kp = tanpa vaksin + uji tantang; P1 = perendaman salinitas 3 ppt + vaksin + uji tantang; P2 = perendaman salinitas 6 ppt + vaksin + uji tantang; dan P3 = perendaman salinitas 9 ppt + vaksin + uji tantang. Huruf superskrip menunjukkan perbedaan antarperlakuan dalam waktu yang sama ($P < 0,05$)

Figure 1. Total erythrocytes in catfish treated with vaccine using the hyperosmotic infiltration method. Kn = no vaccine + no challenge test; Kp = no vaccine + challenge test; P1 = immersion in 3 ppt salinity + vaccine + challenge test; P2 = immersion in 6 ppt salinity + vaccine + challenge test; and P3 = immersion in 9 ppt salinity + vaccine + challenge test. Superscript letters indicate differences among treatments at the same time ($P < 0,05$)

Hasil pengukuran jumlah total leukosit pada awal penelitian sampai akhir berkisar antara $(7,69 \pm 0,02$ hingga $10,13 \pm 0,04) \times 10^4$ sel mm^{-3} . Total leukosit tersebut menunjukkan nilai yang normal untuk ikan lele. Menurut Purwanti *et al.* (2014), jumlah sel darah putih (leukosit) tiap mm^3 darah ikan berkisar 20.000-150.000 butir. Berdasarkan data pada Gambar 2, diketahui bahwa nilai total leukosit paling tinggi terdapat pada perlakuan kontrol positif hari ke-30 yaitu $10,13 \pm 0,04 \times 10^4$ sel mm^{-3} dan paling rendah terdapat pada perlakuan P2 (6 ppt) hari ke-30 yaitu $7,69 \pm 0,02 \times 10^4$ sel mm^{-3} . Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa pengukuran total leukosit pada awal penelitian (H0) tidak berbeda nyata antar perlakuan ($P > 0,05$) dengan nilai berkisar antara $(8,90 \pm 0,05$ hingga $8,96 \pm 0,02) \times 10^4$ sel mm^{-3} , namun pada H15 dan H30 berbeda nyata ($P < 0,05$) antara kontrol

positif dengan P1, P2, dan P3. Hari ke-15 pascavaksinasi, total leukosit mengalami peningkatan pada P1, P2, dan P3. Hal ini menunjukkan bahwa perendaman salinitas 3, 6, dan 9 ppt dapat membantu ikan dalam proses penyerapan vaksin yang lebih optimal, sehingga nilai total leukosit meningkat. Menurut Firly *et al.* (2015), peningkatan sel leukosit dikarenakan refleksi keberhasilan sistem imun ikan dalam meningkatkan respons imun seluler untuk imunitas tubuh. Hidayatullah *et al.* (2022) juga mengatakan bahwa peningkatan leukosit pada saat pra uji tantang disebabkan oleh pengaruh pemberian vaksin, sehingga peningkatan konsentrasi leukosit berdampak positif untuk pembentukan antibodi sehingga menunjukkan adanya respons perlawanan tubuh terhadap zat asing (Purwanti *et al.*, 2014). Hari ke-15 pasca uji tantang (H30), total leukosit mengalami penurunan. Hal ini diduga karena aktivitas patogen menurun sehingga total leukosit juga ikut menurun, namun pada kontrol positif, total leukosit masih mengalami peningkatan. Hal ini diduga karena serangan patogen masih berlangsung sehingga total leukosit yang didapat masih tinggi. Hal ini selaras dengan Pattipeiluhu *et al.*, (2022) yang mengatakan bahwa peningkatan total leukosit disebabkan tubuh ikan bertahan dari adanya infeksi yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*. Menurut Resmawati *et al.* (2016), peningkatan jumlah sel darah putih ini merupakan respons dalam bentuk proteksi terhadap adanya sel asing termasuk adanya infeksi bakteri yang masuk ke tubuh ikan. Leukosit berperan penting dalam sistem kekebalan tubuh terutama merusak bahan-bahan infeksius dan toksik melalui proses fagositosis dengan cara membentuk antibodi (Maryani *et al.*, 2021). Nilai total leukosit dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Total leukosit pada ikan lele yang diberi perlakuan vaksin dengan metode infiltrasi hiperosmotik. Kn = tanpa vaksin + tanpa uji tantang; Kp = tanpa vaksin + tanpa uji tantang; Kp = tanpa vaksin + uji tantang; P1 = perendaman salinitas 3 ppt + vaksin + uji tantang; P2 = perendaman salinitas 6 ppt + vaksin + uji tantang; dan P3 = perendaman salinitas 9 ppt + vaksin + uji tantang. Huruf superskrip menunjukkan perbedaan antarperlakuan dalam waktu yang sama ($P < 0,05$)

Figure 2. Total leukocytes in catfish treated with vaccine using the hyperosmotic infiltration method. Kn = no vaccine + no challenge test; Kp = no vaccine + challenge test; P1 = immersion in 3 ppt salinity + vaccine + challenge test; P2 = immersion in 6 ppt salinity + vaccine + challenge test; and P3 = immersion in 9 ppt salinity + vaccine + challenge test. Superscript letters indicate differences among treatments at the same time ($P < 0,05$)

Titer Antibodi

Berdasarkan hasil pengamatan, titer antibodi tertinggi terdapat pada perlakuan P2 hari ke-30 yaitu sebesar $8,0 \pm 0,0$ dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya ($P < 0,05$), sedangkan titer antibodi terendah terdapat pada perlakuan kontrol negatif dan positif masing-masing $0,0 \pm 0,0$ dan $2,0 \pm 0,0$. Berdasarkan hasil data tersebut dapat diketahui bahwa vaksinasi mampu meningkatkan antibodi ikan, sehingga ikan dapat melawan antigen yang masuk ke dalam tubuh. Hidayatullah *et al.* (2022) mengatakan bahwa titer antibodi menggambarkan nilai antibodi dalam tubuh ikan, semakin besar nilai antibodi ikan maka semakin baik ikan dalam melawan serangan patogen. Titer antibodi belum muncul pada awal penelitian, namun setelah uji tantang (H15) nilai titer antibodi terus meningkat sampai

pascaujiantang (H30) pada perlakuan P1, P2, dan P3 dengan nilai masing-masing yaitu $5,0 \pm 0,0$, $8,0 \pm 0,0$, dan $4,6 \pm 0,5$. Peningkatan titer antibodi mengindikasikan adanya respons terhadap pemberian vaksin (antigen) yang diinjeksikan ke dalam tubuh ikan uji (Nugroho *et al.*, 2019). Hal ini diduga bahwa titer antibodi terbentuk ketika tubuh mulai mengenali antigen yang masuk, jika tidak ada antigen yang menyerang tubuh ikan, maka antibodi spesifik belum terbentuk. Hidayatullah *et al.* (2022) juga mengatakan bahwa titer antibodi tidak ditemukan pada perlakuan kontrol negatif hingga akhir pemeliharaan. Titer antibodi ikan uji selama penelitian dapat diuraikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Titer antibodi ikan lele yang diberi vaksin dengan metode infiltrasi hiperosmotik
Table 1. Titer antibody of catfish given the vaccine using the hyperosmotic infiltration method

Perlakuan <i>Treatments</i>	Hari ke- <i>Day</i>		
	6 H0	H15	H30
Kn	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$
Kp	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$	$2,0 \pm 0,0^b$
P1	$0,0 \pm 0,0^a$	$4,3 \pm 0,5^b$	$5,0 \pm 0,0^c$
P2	$0,0 \pm 0,0^a$	$6,0 \pm 0,0^d$	$8,0 \pm 0,0^d$
P3	$0,0 \pm 0,0^a$	$4,0 \pm 0,0^c$	$4,6 \pm 0,5^c$

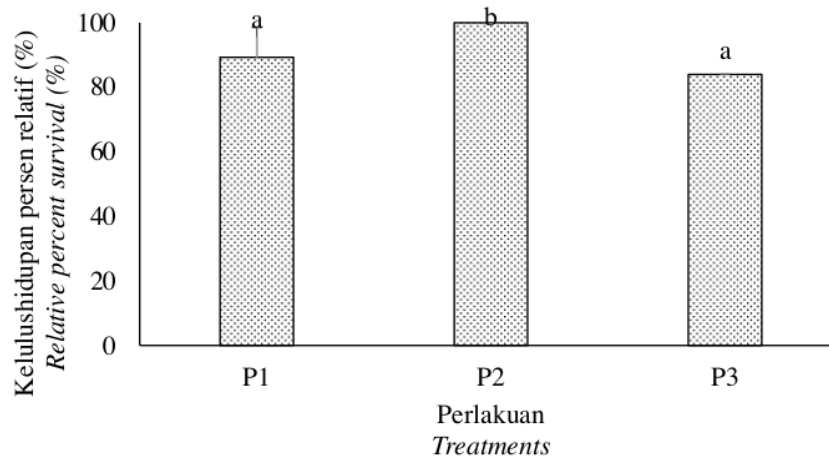
Keterangan: Kn = tanpa vaksin + tanpa uji tantang; Kp = tanpa vaksin + uji tantang; P1 = perendaman salinitas 3 ppt + vaksin + uji tantang; P2 = perendaman salinitas 6 ppt + vaksin + uji tantang; dan P3 = perendaman salinitas 9 ppt + vaksin + uji tantang). Huruf superskrip menunjukkan perbedaan antarperlakuan dalam waktu yang sama ($P < 0,05$)

Description: Kn = no vaccine + no challenge test; Kp = no vaccine + challenge test; P1 = immersion in 3 ppt salinity + vaccine + challenge test; P2 = immersion in 6 ppt salinity + vaccine + challenge test; and P3 = immersion in 9 ppt salinity + vaccine + challenge test). Superscript letters indicate differences among treatments at the same time ($P < 0,05$)

Relative Percent Survival dan Tingkat Kelulushidupan

Hasil pengamatan tingkat kelangsungan hidup relatif atau *relative percent survival* menunjukkan bahwa perendaman dalam media bersalinitas sebelum vaksinasi memberikan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$). *Relative percent survival* tertinggi terdapat pada perlakuan P2 (6 ppt) yaitu sebesar $100 \pm 0,00\%$ dan berbeda nyata dengan perlakuan P1 (3 ppt) dan P3 (9 ppt) dengan masing-masing nilai sebesar $89,3 \pm 9,23\%$ dan $84 \pm 0,00\%$. Berdasarkan data tersebut diketahui bahwa perlakuan P2 (6 ppt) memberikan tingkat kelangsungan hidup relatif yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Hal ini diduga bahwa perendaman dalam media bersalinitas 6 ppt sebelum vaksinasi dapat meningkatkan

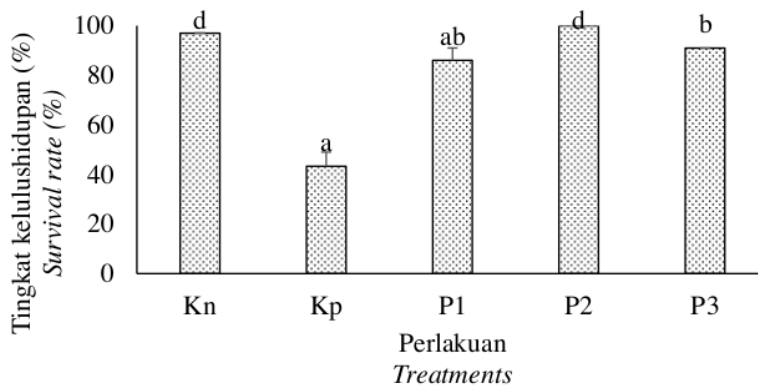
penyerapan vaksin paling optimal daripada perendaman dalam media bersalinitas 3 dan 9 ppt. Menurut Taukhid *et al.* (2018), vaksin ikan dianggap efektif apabila memiliki nilai RPS minimal sebesar 50% jika diberikan melalui perendaman. Pemberian vaksin pada perlakuan P1, P2, dan P3 dapat dikatakan sudah efektif karena memberikan proteksi terhadap ikan lele lebih dari 50%. Dari hasil yang didapat ¹ memperlihatkan bahwa ada kemampuan spesifik dari vaksin dalam ⁵ mencegah infeksi patogen. Nilai RPS yang dihasilkan oleh ikan lele menunjukkan bahwa dengan pemberian vaksin dapat meningkatkan respons imun dengan cara membentuk ⁵ antibodi sehingga ikan lebih tahan terhadap serangan bakteri *A. hydrophila* pada saat uji ¹² tantang. Hal ini selaras dengan Reynalta *et al.* (2018) yang mengatakan bahwa peningkatan kekebalan tubuh pada ikan yang divaksin mengindikasikan adanya ¹² pengaktifan respons imun spesifik terhadap bakteri. Nilai *relative percent survival* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kelulushidupan persen relatif ikan lele yang diberi perlakuan vaksin dengan metode infiltrasi hiperosmotik. P1 = perendaman salinitas 3 ppt + vaksin + uji tantang; P2 = perendaman salinitas 6 ppt + vaksin + uji tantang; dan P3 = perendaman salinitas 9 ppt + vaksin + uji tantang. Huruf superskrip menunjukkan perbedaan antarperlakuan ($P < 0,05$)

Figure 3. Relative percent survival of catfish treated with vaccine using the hyperosmotic infiltration method. Kn = no vaccine + no challenge test; Kp = no vaccine + challenge test; P1 = immersion in 3 ppt salinity + vaccine + challenge test; P2 = immersion in 6 ppt salinity + vaccine + challenge test; and P3 = immersion in 9 ppt salinity + vaccine + challenge test. Superscript letters indicate differences among treatments ($P < 0,05$)

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan Kn (kontrol negatif) dan P2 (6 ppt) berbeda nyata dengan perlakuan Kp (kontrol positif), sedangkan perlakuan P1 dan P3 tidak beda nyata terhadap *survival rate* ikan lele. Tingkat kelulushidupan ikan lele selama penelitian yaitu antara $43,3 \pm 5,7$ hingga $100 \pm 0,00\%$, di mana tingkat kelulushidupan tertinggi terdapat pada perlakuan P2 (6 ppt), yaitu sebesar 100%, sedangkan yang terendah pada perlakuan kontrol positif sebesar $43,3 \pm 5,7\%$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa perendaman ikan uji pada salinitas 6 ppt sebelum vaksinasi dapat membantu penyerapan vaksin dengan baik sehingga mampu meningkatkan stimulus ikan dan memberikan nilai *survival rate* yang tinggi. Nilai *survival rate* pada perlakuan yang diberi vaksin lebih tinggi daripada kontrol. Hal ini diduga karena ikan hanya mengandalkan sistem imun nonspesifik yang terdapat pada tubuhnya sendiri. Semakin tinggi nilai *survival rate* yang diperoleh maka semakin baik efikasi vaksin dalam melawan serangan patogen. Menurut Yusuf *et al.* (2021) dalam penelitiannya mengatakan bahwa hasil uji vaksin yang diberikan secara perendaman mampu meningkatkan level antibodi dan daya *memorizing* pada antigen yang masuk. Dari hal tersebut dapat disimpulkan bahwa tubuh ikan yang diberi vaksin akan mengenali antigen yang masuk ke dalam tubuh dengan tujuan bila suatu saat ada patogen yang menyerang, ikan telah memiliki antibodi untuk melawan patogen tersebut. Nilai *survival rate* ikan uji selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Tingkat kelulushidupan ikan lele yang diberi perlakuan vaksin dengan metode

infiltrasi hiperosmotik. Kn = tanpa vaksin + tanpa ujiantang; Kp = tanpa vaksin + ujiantang; P1 = perendaman salinitas 3 ppt + vaksin + ujiantang; P2 = perendaman salinitas 6 ppt + vaksin + ujiantang; dan P3 = perendaman salinitas 9 ppt + vaksin + ujiantang. Huruf superskrip menunjukkan perbedaan antarperlakuan ($P < 0,05$)

Figure 4. Survival rate of catfish treated with vaccine using the hyperosmotic infiltration method. Kn = no vaccine + no challenge test; Kp = no vaccine + challenge test; P1 = immersion in 3 ppt salinity + vaccine + challenge test; P2 = immersion in 6 ppt salinity + vaccine + challenge test; and P3 = immersion in 9 ppt salinity + vaccine + challenge test. Superscript letters indicate differences among treatments ($P < 0,05$)

Gejala Klinis

Berdasarkan hasil pengamatan, perubahan tingkah laku dan morfologi ikan lele mulai tampak di hari pertama pascainfeksi bakteri *A. hydrophila*, yaitu terjadi peradangan pada bekas suntikan dan muncul bercak merah. Pada hari kedua pascainfeksi muncul lendir yang berlebih, nafsu makan yang menurun serta peradangan pada bekas suntikan yang semakin melebar. Pada hari ke-3, terdapat luka yang terbuka (*ulcer*) dan ikan berenang lemah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Fitriyanti (2020) yang menyatakan bahwa perubahan tingkah laku ikan lele yang terinfeksi *A. hydrophila* meliputi berenang tidak normal atau pasif dan nafsu makan yang menurun, sedangkan perubahan morfologi yang terjadi yaitu terdapat luka pada bekas suntikan, *dropsy*, dan nekrosis.

Rochani *et al.* (2021), menyatakan bahwa infeksi bakteri *A. hydrophila* juga menyebabkan terjadinya perubahan tingkah laku ikan seperti ikan berenang lemah dan respons terhadap pakan lambat. Pada P1, P2, P3, dan kontrol positif menunjukkan adanya peradangan pada bekas suntikan dan bercak merah di hari pertama pascainfeksi. Menurut Rosmawaty *et al.* (2016), bercak merah yang timbul pada tubuh ikan disebabkan oleh eksotoksin (hemolisin dan lechitinase) yang disebarkan ke seluruh tubuh melalui aliran darah sehingga menyebabkan hemolisis dan pecahnya pembuluh darah. Hari ke-2, peradangan bekas suntikan semakin membesar, nafsu makan mulai menurun dan muncul lendir berlebih. Hari ke-3 pascainfeksi ditemukan luka atau *ulcer* pada kontrol positif, P1,

dan P3 tidak ditemukan *ulcer*, namun masih terdapat peradangan dan bercak merah pada tubuh ikan, sedangkan peradangan pada ikan perlakuan P2 masih ada namun bercak merah mulai memudar. Pada hari ke-4 pascainfeksi, P1, P2, dan P3 menunjukkan nafsu makan yang kembali normal dan peradangan mulai menghilang, namun pada kontrol positif masih tampak bercak merah dan *ulcer*. Gejala klinis hari ke-5 pascainfeksi, pada perlakuan P1, P2, dan P3 ² baik secara morfologi (Gambar 5) maupun tingkah laku (Tabel 2) menunjukkan bahwa ikan sudah berangsur pulih. Hal ini ditandai dengan respons ikan terhadap pakan cepat dan ikan kembali berenang normal dan peradangan mulai mengecil, kemudian bercak merah juga mulai hilang, sedangkan pada kontrol positif, *ulcer* mulai membaik di akhir penelitian.

Gejala klinis yang muncul pada perlakuan P1, P2, dan P3 yang berangsur pulih sebelum 1 minggu pascainfeksi menunjukkan bahwa vaksin terserap dengan baik. Ellis (1988), menyatakan bahwa ³ vaksinasi dengan metode infiltrasi hiperosmotik dapat menambah jumlah volume vaksin yang diserap ke dalam tubuh ikan, dan salinitas 6 ppt (P2) merupakan dosis optimum karena mendekati dengan konsentrasi cairan tubuh ikan lele. Hal ini selaras dengan pendapat Firdausi *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan cairan tubuh menyebabkan penyerapan vaksin kurang maksimal, sebaliknya konsentrasi yang lebih tinggi dari cairan tubuh ikan akan berdampak pada kemampuan adaptasi ikan sehingga penyerapan vaksin juga kurang optimal. Firdausi *et al.* (2018) menyatakan bahwa ⁵ vaksin produk intraseluler *A. hydrophila* dapat merangsang respons imun humoral yang lebih tinggi dengan pembentukan titer antibodi. Hal ini disebabkan dalam produk intraseluler *A. hydrophila* terdapat berbagai jenis protein dan polisakarida yang bersifat imunogenik. ³ seperti imunoglobulin, faktor komplemen, lisozim, protease inhibitor menyerupai makroglobulin, jenis berbeda dari lektin dan serin (Swain dan Nayak, 2009).



Ulcer

Gambar 5. *Ulcer* pascainfeksi ikan lele pada percobaan pemberian vaksin dengan metode infiltrasi hiperosmotik hari ke-3 pada kontrol positif

Figure 5. *Wound after infection in catfish in the experiment of application of the vaccine using the hyperosmotic infiltration method on day 3 on control positive*

Tabel 2. Gejala klinis pascainfeksi pada ikan lele yang diberi vaksin dengan metode infiltrasi hiperosmotik

Table 2. *Clinical symptoms after infection of catfish given the vaccine using the hyperosmotic infiltration method*

Parameter <i>Parameters</i>	Kn	Kp	P1	P2	P3
Pergerakan <i>Movement</i>	+++	+	+++	+++	+++
Nafsu makan <i>Apetite</i>	+++	+	++	+++	++
Luka di badan <i>Body wounds</i>	-	+++	+	+	+

Keterangan: - = tidak ada, + = sedikit atau cukup, ++ = baik, dan +++ = sangat baik

Description: - = not detected, + = fairly, ++ = good, and +++ = very good

Kualitas Air

Hasil pengukuran kualitas air yang dilakukan selama penelitian yaitu 25-27,4°C untuk suhu, 7,6 -8,8 mg L⁻¹ untuk oksigen terlarut, dan 6,7-7,5 untuk pH. ¹ Kisaran kualitas air selama penelitian masih dalam kondisi yang optimum untuk pertumbuhan ikan, meskipun ² mengalami fluktuasi, namun masih dalam kisaran toleransi ikan lele. Menurut Badan Standardisasi Nasional (2014), persyaratan kualitas air untuk ikan lele adalah suhu 25-30°C dengan pH 6,5-8 dan oksigen terlarut minimal 3 mg L⁻¹. Nilai suhu, pH, dan oksigen terlarut merupakan faktor yang dapat memengaruhi kesehatan ikan, karena bila suhu, pH, dan oksigen terlarut tidak dalam nilai optimum maka dapat mengganggu pertumbuhan serta menimbulkan kematian pada ikan. ² Lusiasuti *et al.* (2016) mengatakan bahwa di luar kisaran suhu 25-30°C, ikan lele akan mengalami pertumbuhan yang lambat dan penurunan resistensi terhadap penyakit, terutama yang disebabkan karena infeksi bakteri dan jamur. Dari hasil penelitian ini diketahui bahwa kualitas air bukan penyebab ¹ kematian dan gejala klinis yang terjadi pada ikan, namun sepenuhnya disebabkan oleh infeksi bakteri A.

hydrophila. Data kualitas air dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kualitas air media pemeliharaan ikan lele yang diberi vaksin dengan metode infiltrasi hiperosmotik

Table 3. Water quality of rearing media of catfish given the vaccine using the hyperosmotic infiltration method

No	Parameter Parameters	Nilai Scores	Kisaran optimum Optimum ranges	Referensi References
1	Suhu <i>Temperature (°C)</i>	25-27,4	25-30	SNI 6484.1: 2014
2	Oksigen terlarut (mg L ⁻¹) <i>Dissolved oxygen (mg L⁻¹)</i>	7,6-8,8	≥ 3	SNI 6484.1: 2014
3	pH	6,7-7,5	6,5-8	SNI 6484.1: 2014

KESIMPULAN

Metode infiltrasi hiperosmotik sebelum vaksinasi berpengaruh nyata terhadap penyerapan vaksin sel utuh *A. hydrophila* pada ikan lele. Hal ini terbukti dengan adanya peningkatan sistem imun pada ikan lele. Hasil perendaman terbaik terjadi pada P2 (6 ppt) dengan memberikan nilai kelangsungan hidup ikan sebesar 100% setelah diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*.

20%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	www.researchgate.net Internet	439 words — 9%
2	ejournal2.undip.ac.id Internet	214 words — 4%
3	simdos.unud.ac.id Internet	81 words — 2%
4	eprints.umm.ac.id Internet	53 words — 1%
5	es.scribd.com Internet	47 words — 1%
6	Mashooda Begum, S. Lokesh, V. B. Raghavendra. " Role of leaf extracts of some medicinal plants in the management of seed-borne fungal diseases of Okra ((L.) Moench) ", Archives Of Phytopathology And Plant Protection, 2009 Crossref	36 words — 1%
7	jfmr.ub.ac.id Internet	32 words — 1%
8	Arini Resti Fauzi, Hastiadi Hasan, Eko Prasetio. "UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN KEMBANG SEPATU (Hibiscus rosa sinensis L.) SEBAGAI	29 words — 1%

IMMUNOSTIMULAN IKAN JELAWAT (*Leptobarbus hoevenii* Blkr.)
YANG DIINFEKSI DENGAN BAKTERI *Aeromonas hydrophila*",
Jurnal Ruaya : Jurnal Penelitian dan Kajian Ilmu Perikanan dan
Kelautan, 2019

Crossref

9	www.neliti.com Internet	28 words — 1%
10	fahatan.unmul.ac.id Internet	27 words — 1%
11	jurnal.fp.unila.ac.id Internet	26 words — 1%
12	repository.umi.ac.id Internet	26 words — 1%

EXCLUDE QUOTES ON

EXCLUDE SOURCES < 1%

EXCLUDE BIBLIOGRAPHY ON

EXCLUDE MATCHES < 10 WORDS