



IMUNOGENISITAS KOMBINASI VAKSIN INAKTIF *WHOLE CELL* *Aeromonas salmonicida* DAN VITAMIN C PADA IKAN MAS (*Cyprinus carpio*)

Nurma Jana Hazzulli^{*†}, Agus Setyawan[‡] dan Esti Harpeni[‡]

ABSTRAK

Penambahan vitamin C dalam vaksin diketahui dapat meningkatkan imunogenisitas dan efektivitas vaksin. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan imunogenisitas vaksin inaktif *whole cell A. salmonicida* dengan penambahan vitamin C pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). *A. salmonicida* diinaktifasi dengan formalin 1,5 % (v/v). Vaksin I disuntikkan secara intra peritoneal (i.p) (10^7 sel / ikan) kepada ikan mas (ukuran \pm 30gr). Vaksin II (Booster) dilakukan 7 hari setelah vaksinasi I dengan metode dan dosis yang sama. Pengambilan darah (*Bleeding*) dilakukan sebelum vaksinasi, 7 hari setelah vaksinasi I, dan 7 hari setelah vaksinasi II. Analisis darah meliputi titer antibodi, hematokrit, dan total leukosit diamati setiap pengambilan sampel darah. Hasil penelitian menunjukkan penambahan 1000 mg vitamin C dalam vaksin memiliki nilai titer antibodi, hematokrit, dan total leukosit paling tinggi dari perlakuan lainnya yaitu 2^8 , 28%, 88.000 sel/mm³, secara berturut-turut pada pengamatan terakhir (7 hari setelah *booster*).

Kata kunci : vaksin inaktif, vitamin C, *Aeromonas salmonicida*, ikan mas, imunogenisitas

Pendahuluan

Budidaya ikan mas (*Cyprinus carpio*) tidak terlepas dari adanya kemungkinan terserang penyakit. Salah satu penyebab penyakit pada ikan mas adalah bakteri *Aeromonas salmonicida*, bakteri ini dapat menyebabkan kematian pada ikan yang dibudidayakan. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. salmonicida* yang menyerang ikan mas disebut penyakit *carp erythrodermatitis*.

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

* Mahasiswa Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Lampung

† Email : Nhazzulli@yahoo.com

‡ Dosen Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Lampung

yang disebabkan oleh bakteri *A. salmonicida*, salah satunya adalah dengan penggunaan vaksin. Vaksinasi diyakini dapat memberikan kekebalan spesifik pada ikan terhadap penyakit tertentu. Pemberian vaksin pada ikan dapat meningkatkan imunogenisitas ikan tersebut. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan imunogenitas tinggi pada ikan, ditandai dari titer antibodi yang tinggi (Setyawan dkk., 2012). Namun, hasil dari vaksinasi kurang memuaskan karena keampuhannya tergantung pada peningkatan ketahanan humoral dan hanya efektif pada agen patogen yang spesifik. Oleh sebab itu perlu dilakukan penambahan immunostimulan untuk meningkatkan efektivitas vaksin dan pertahanan non spesifik pada ikan. Salah satu sumber immunostimulan yang dapat digunakan adalah vitamin C. Penelitian Ilmiah dkk. (2009) menunjukkan bahwa penambahan immunostimulan berupa vitamin C dalam pakan dapat meningkatkan sistem imun dalam tubuh

Bahan dan Metode

Penelitian dilaksanakan pada Oktober - Desember 2012 di Laboratorium Budidaya Perikanan dan Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Rancangan yang dipakai dalam penelitian ini yaitu rancangan acak lengkap (RAL). Data yang didapatkan dianalisis dengan analisis sidik ragam (ANOVA). Jika terdapat beda nyata antar perlakuan maka dilakukan uji BNT pada selang kepercayaan 95% .

Penelitian ini menggunakan vitamin C yang ditambahkan ke dalam pakan dan penyuntikan vaksin inaktif *A. salmonicida* dengan 6 perlakuan dan 3 kali pengulangan. Perlakuannya sebagai berikut :

ikan dan mampu melindungi ikan dari serangan bakteri *A. salmonicida*.

Kombinasi vaksin inaktif *A. salmonicida* dengan vitamin C diharapkan dapat meningkatkan daya tahan tubuh ikan sehingga meningkatkan proteksi terhadap serangan penyakit tertentu. Selain itu kombinasi keduanya dapat meningkatkan mekanisme respon ikan baik seluler maupun humoral (Alifuddin, 1999). Vaksinasi dan pemberian vitamin C yang memadai mampu menurunkan mortalitas benih ikan lele dari serangan *A. hydrophila* (Isnansetyo, 1996). Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui imunogenisitas vaksin inaktif *whole cell A. salmonicida* yang dikombinasikan dengan vitamin C terhadap infeksi *A. salmonicida* pada ikan mas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkaji dosis vitamin C terbaik untuk meningkatkan imunogenisitas vaksin inaktif *whole cell A. salmonicida* pada ikan mas.

- Perlakuan A : Tanpa vaksinasi, tanpa penambahan vitamin C
- Perlakuan B : Tanpa vaksinasi, penambahan 1000 mg vitamin C / kg pakan.
- Perlakuan C : Vaksinasi, tanpa penambahan vitamin C
- Perlakuan D : Vaksinasi, penambahan 500 mg vitamin C / kg pakan
- Perlakuan E : Vaksinasi, penambahan 750 mg vitamin C / kg pakan.
- Perlakuan F: Vaksinasi, penambahan 1000 mg vitamin C / kg pakan.

Parameter yang diamati meliputi: titer antibodi, jumlah total leukosit, nilai

hematokrit, dan kualitas air meliputi suhu, pH, dan oksigen terlarut. Akuarium berukuran 60 x 40 x 40 cm

Hasil dan Pembahasan

Titer Antibodi Vaksin Inaktif A. salmonicida yang dikombinasikan dengan Vitamin C

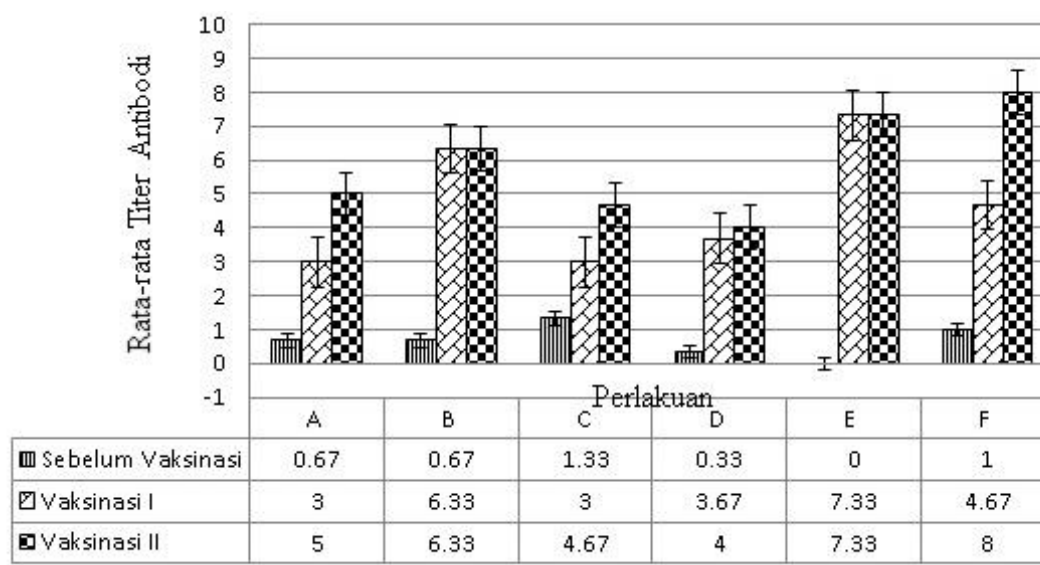
Hasil rata-rata titer antibodi tertinggi sampai terendah pada vaksinasi II berturut-turut didapatkan pada perlakuan vaksin dengan penambahan vitamin C 1000 mg (2^8), vaksin dengan penambahan vitamin C 750 mg (2^7), vitamin C 1000mg (2^6), tanpa vaksin dan vitamin C (2^5), vaksin tanpa vitamin C (2^5) dan vaksin dengan penambahan vitamin C 500mg (2^4). Hal ini menunjukkan bahwa ikan yang divaksin dengan antigen H pada *Aeromonas salmonicida* dan penambahan vitamin C memiliki respon imun adaptif yang tinggi terbukti dari ikan uji mampu membentuk dan meningkatkan produksi antibodi. Sesuai yang diungkapkan Alifuddin (2002) bahwa vaksin akan direspon ikan dengan mensintesis antibodi, sedangkan vit.C akan direspon ikan dengan peningkatan aktivitas dan reaktivitas sel pertahanan seluler maupun humoral, selain itu penambahan vitamin C dapat memberikan peningkatan aktifitas fagositosis (respon imun non spesifik) pada ikan (Ilmiah dkk., 2009) sehingga saat keduanya dikombinasikan akan menghasilkan tingkat antibodi yang tinggi. Vitamin C yang diberikan selain dapat meningkatkan produksi antibodi, juga dapat meningkatkan aktivitas *Cell Mediated Immunity* (CMI) (Setyabudi

sebanyak 18 buah dan ikan mas dengan berat \pm 30 gram (10 ekor/ akuarium) digunakan dalam penelitian ini.

dkk., 1992). CMI bertanggung jawab terhadap produksi limfosit dan juga sel memori. Saat limfosit tersebut kontak dengan antigen, akan mengadakan perubahan secara mitosis dengan memproduksi sel anak dalam jumlah yang banyak yang spesifik dengan antigen tersebut. Dengan demikian secara tidak langsung vitamin C juga meningkatkan produksi sel anak limfosit yang dapat berpengaruh pula pada peningkatan titer antibodi.

Semakin tingginya nilai titer antibodi maka semakin tinggi pula ketahanan tubuh karena vaksin mampu meningkatkan produksi antibodi pada tubuh ikan. Bahkan menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Isnansetyo (1996), vaksinasi yang ditambah dengan vitamin C meningkatkan produksi antibodi hingga empat kali lebih besar dibandingkan kontrol.

Hasil analisis sidik ragam pemeriksaan titer antibodi pada vaksinasi II, menunjukkan bahwa pemberian vaksin *A. salmonicida* berpengaruh nyata ($P < 0,00$) terhadap kontrol. Uji lanjut BNT menunjukkan perlakuan B berbeda nyata terhadap semua perlakuan, perlakuan E dan F berbeda nyata pada perlakuan A, B, C, D, sedangkan perlakuan A, C, dan D berbeda nyata terhadap perlakuan B, E, dan F (Gambar 1).



Gambar 1. Nilai Rata-rata Titer Antibodi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Sebelum Vaksinasi, Satu Minggu Setelah Vaksinasi I, satu Minggu Setelah Vaksinasi II.

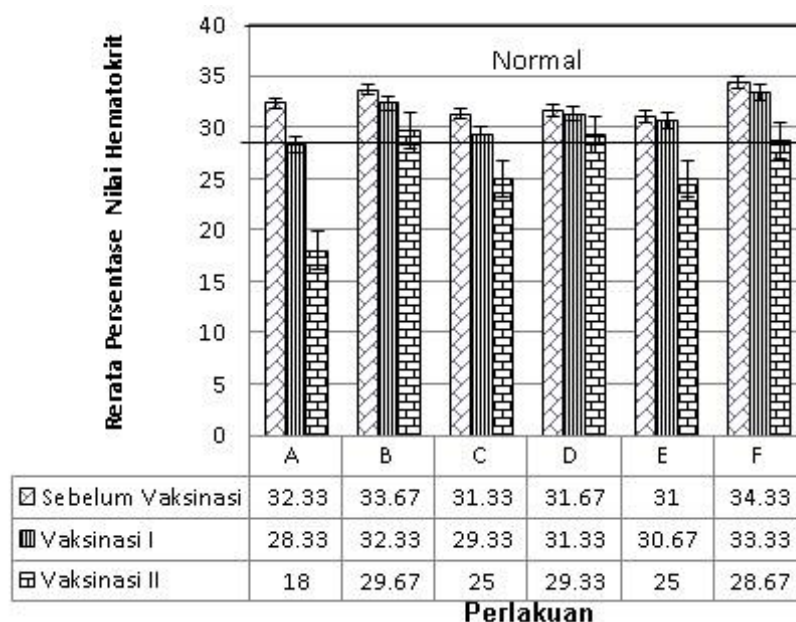
Pemeriksaan Darah

Kadar Hematokrit

Gambaran darah suatu organisme dapat digunakan untuk mengetahui kondisi kesehatan yang sedang dialami oleh organisme tersebut. Hematokrit merupakan parameter yang digunakan untuk mengukur persentase sel darah merah pada darah dengan cara membandingkan volume sel darah merah dengan plasma darah. Wedemeyer and Yasutake (1977), kadar hematokrit dapat digunakan untuk menentukan kondisi ikan dalam keadaan sehat atau yang terkena anemia. Pengamatan terhadap nilai hematokrit dalam darah ikan mas pada perlakuan yang berbeda menunjukkan nilai yang berfluktuasi (Gambar 2), adanya fluktuasi kadar hematokrit selama penelitian disebabkan perubahan kondisi lingkungan. Hal ini sesuai dengan pendapat Wedemeyer and Yasutake (1977) yang menyatakan bahwa kadar hematokrit dapat berubah-

ubah tergantung pada musim, suhu, dan pemberian makanan yang sehat.

Secara umum kadar hematokrit ikan kontrol dan perlakuan masih dalam kisaran normal, seperti yang diungkapkan oleh Svobodova and Vyukusova (1991) Persentase nilai hematokrit ikan mas normal berkisar antara 28% - 40%. Pada kasus ini setiap perlakuan mengalami penurunan nilai hematokrit namun masih dalam kisaran normal. Menurunnya kadar hematokrit dapat dijadikan indikator bahwa vaksin yang diberikan pada ikan perlakuan memiliki hubungan korelasi positif dalam peningkatan total leukosit pada tubuh ikan. Nilai hematokrit tertinggi terdapat pada perlakuan E yaitu $34,33 \pm 9,07$ sebelum vaksinasi. Pada ikan kontrol penurunan kadar hematokrit sangat rendah dibandingkan perlakuan lainnya yaitu mengalami penurunan nilai hematokrit sampai mencapai nilai $18 \pm 11,78$.



Gambar 2. Nilai Rata-rata Persentase Hematokrit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Sebelum Vaksin, Satu Minggu Setelah Vaksinasi I, Satu Minggu Setelah Vaksinasi II.

Rendahnya nilai hematokrit pada perlakuan kontrol ini diduga disebabkan karena ikan menderita anemia. Analisa sidik ragam (ANOVA) pada selang kepercayaan 95%, diperoleh hasil bahwa sebelum vaksinasi, satu minggu setelah vaksinasi I, dan satu minggu setelah vaksinasi II tidak terdapat perlakuan yang berbeda nyata, yang artinya perlakuan tidak mengubah nilai hematokrit secara nyata. Nilai hematokrit pada seluruh perlakuan masih berada dalam kondisi normal.

Total Leukosit

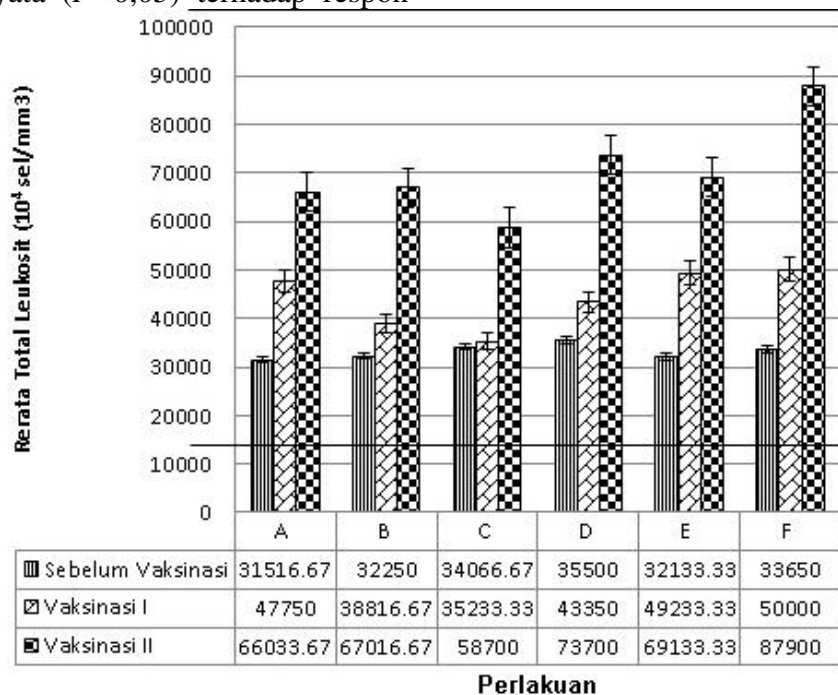
Gambaran darah yang lain yaitu dapat dilihat dari total leukosit ikan. Leukosit memiliki bentuk lonjong sampai bulat, tidak berwarna dan merupakan unit yang aktif dari sistem pertahanan tubuh (Lagler *et al.*, 1977). Peningkatan jumlah leukosit terjadi pada setiap perlakuan yang diamati pada saat sebelum vaksinasi, satu minggu setelah vaksinasi I dan satu minggu setelah vaksinasi II (Gambar 2). Pengamatan

leukosit sebelum vaksinasi, vaksinasi I, dan vaksinasi II, untuk setiap perlakuan mengalami peningkatan sesuai batas normal. Leukosit ikan normal berkisar antara 20.000 – 150.000 sel/mm³ (Zainun, 2007). Peningkatan tertinggi terjadi pada perlakuan F yaitu 87.900 sel/mm³, peningkatannya lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya, hal tersebut menunjukkan bahwa vaksin dan vit.C yang masuk ke dalam tubuh memberikan efek positif terhadap peningkatan jumlah leukosit dalam darah (Zainun, 2007).

Leukosit memiliki tanggung jawab dalam respon kekebalan, apabila ada zat asing yang masuk ke dalam tubuh maka leukosit akan membuat antibodi. Antibodi akan digunakan oleh sistem kekebalan tubuh untuk memberikan rangsangan, mengidentifikasi dan menetralkan benda asing (antigen) yang masuk, seperti bakteri. Semakin besar rangsangan antigen, maka semakin banyak antibodi yang akan

dihasilkan. Bakteri yang masuk ke dalam tubuh ikan akan diidentifikasi oleh leukosit sebagai antigen. Peningkatan jumlah leukosit pada setiap perlakuan berbanding lurus dengan penurunan kadar hematokrit pada ikan uji. Hasil analisa ragam (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 95%, perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) terhadap respon

imun non spesifik ikan mas pada saat vaksinasi II. Hasil uji lanjut BNT menunjukkan perlakuan A berbeda nyata terhadap semua perlakuan (Gambar 3). Artinya perlakuan mampu memberikan pengaruh nyata terhadap peningkatan nilai total leukosit ikan mas dibandingkan dengan ikan yang tidak diberi perlakuan sama sekali.



Gambar 3. Nilai Rata-rata Total Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Sebelum Vaksin, Satu Minggu Setelah Vaksinasi I, Satu Minggu Setelah Vaksinasi II.

Kesimpulan

Dosis 1000 mg vitamin C/kg pakan mampu meningkatkan imunogenisitas

vaksin inaktif *whole cell A. salmonicida* pada ikan mas.

Daftar Pustaka

- Alifuddin, M. 1999. Peran Imunostimulan Lipopolisakarida, *Saccharomyces cerevisiae* and Levamisol) terhadap Peningkatan Respon Imunitas Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*). Tesis. Program Studi Ilmu Perairan. Program Pasca sarjana IPB, Bogor. 50 hal.
- Alifuddin, M. 2002. Imunostimulasi Pada Hewan Akuatik. Jurnal Akuakultur Indonesia 1: 87-92
- Ilmiah., Triana, St. H., Tassakka, A.C.M.A.R., Rantetondok, A., and Anshary, H. 2009. The Effect of Vitamin C and *Aeromonas* Vaccine On The Immune Response and Disease Resistance Of Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*). Mar. Res. Indonesia 34: 81-85
- Isnansetyo, A. 1996. Penambahan Vitamin C pada Pakan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) untuk meningkatkan Tanggap Kebal terhadap Vaksin *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Perikanan 1: 35-40.
- Lagler KF, Bardach JE, RR Miller, and Passino DRM. 1977. *Ichthyology*. John Willey and Sons. Inc. new York-London. Hlm 506.
- Setyabudi, A.M.A., Grant, B.F. and Halver Halver, J.E., 1990. Pengaruh L-Ascorbyl-2-Phosphate (ASPP) Pada Pertumbuhan dan Resistensi Ikan Rainbow trout (*Onchorhyncus mykiss*) Terhadap Infection Hematoporetic Necrosis Virus (IHNV). Prosiding Seminar II Penyakit Ikan dan Udang, Balitbang Pertanian : 71 – 82.
- Setyawan, A., Hudaidah, S., Ranopati, Z.,S., and Sumino. 2012. Imunogenisitas Vaksin Inaktif *Whole Cell Aeromonas salmonicida* pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). Aquasains 1: 17–21.
- Svobodová Z and Vykusová B. 1991. Diagnostic, Prevention and Therapy of Fish Disease and Intoxication. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology Vodňany, Czechoslovakia. <http://id.scribd.com/doc/88930623/Diagnostics-Prevention-and-Therapy-of-Fish-Diseases-and-Intoxications> [31 Juli 2013].
- Wedemeyer GA and Yasutake. 1977. *Clinical Methods for The Assessment on The Effect of Enviromental Stress on Fish Health*. Technical Paper of The US Departement of The Interior Fish ang the Wildlife Service 89 : 1-17.
- Zainun, Z. 2007. Pengamatan Parameter Hematologis Pada Ikan Mas yang diberi Immunostimulan. Bul. Tek. Lit. Akuakultur 6 : 45 - 49

