



UJI AGLUTINASI KANDIDAT VAKSIN *Aeromonas hydrophila* MENGGUNAKAN  
METODE *FORMALIN-KILLED* DENGAN KONSENTRASI BERBEDA PADA SERUM  
IKAN LELE (*Clarias sp.*)

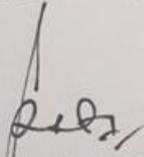
Artikel Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan pada  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

Oleh:

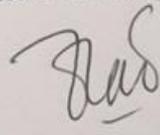
IWIS

NIM. 135080500111100

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing I

  
Dr. Ir. Maftuch, M.Si  
NIP. 19660825 199203 1 001  
Tanggal : 21 APR 2017

Dosen Pembimbing II

  
Dr. Ir. M. Fadjjar, M. Sc  
NIP. 19611106 198602 2 001  
Tanggal : 21 APR 2017



Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS  
NIP. 19620805 198603 2 001  
Tanggal : 21 APR 2017

UJI AGLUTINASI KANDIDAT VAKSIN *Aeromonas hydrophila* MENGGUNAKAN METODE FORMALIN-KILLED DENGAN KONSENTRASI BERBEDA PADA SERUM IKAN LELE (*Clarias* sp.)

Iwis<sup>1)</sup>, Maftuch<sup>2)</sup>, M. Fadjar<sup>3)</sup>,

**Abstrak**

. Penggunaan antibiotik dalam mengatasi masalah penyakit ikan budidaya dapat memberikan resiko tinggi, karena dapat menimbulkan resistensi bakteri, terjadinya akumulasi residu antibiotik tersebut dalam tubuh ikan serta berdampak terhadap pencemaran lingkungan. Oleh karena itu, untuk mencegah infeksi bakteri *A. hydrophila* diperlukan pengembangan alternatif bahan yang dapat meningkatkan respon imun ikan agar mampu melawan agen pembawa penyakit, yaitu pemanfaatan antigen dari bakteri tersebut dan memasukkannya ke dalam tubuh ikan (vaksinasi). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi kandidat vaksin *A. hydrophila* melalui uji aglutinasi dan pengaruhnya terhadap peningkatan titer antibodi ikan lele (*Clarias* sp.). Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 3 perlakuan dan 1 kontrol. Perlakuan A (formalin 2%), perlakuan B (formalin 3%) dan perlakuan C (formalin 4%), kontrol (tanpa vaksinasi). Hasil penelitian menunjukkan rata – rata produksi titer antibodi setelah 1 minggu vaksinasi terdapat pada perlakuan C sebesar 16,667 dan terendah pada perlakuan A sebesar 8. Titer antibodi semakin meningkat setelah dilakukan vaksinasi ulang (*booster*). Titer antibodi tertinggi setelah vaksinasi ulang terdapat pada perlakuan C sebesar 128 dan terendah pada perlakuan A sebesar 16. Penambahan konsentrasi formalin dalam menghasilkan antigen terhadap produksi titer antibodi ikan lele (*Clarias* sp.) menunjukkan pola linier dengan persamaan  $y = -12+9,333x$  dengan koefisien  $R^2 = 0,6806$  pada vaksinasi ke 1 dan  $y = -111,11+56x$  dengan  $R^2 = 0,8147$  pada vaksinasi ulang. Hubungan antara penggunaan formalin dengan konsentrasi berbeda dalam menghasilkan antigen dan rata – rata titer antibodi yang dihasilkan menunjukkan respon yang meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi. Antigen yang dihasilkan terbukti mampu meningkatkan produksi titer antibodi setelah uji aglutinasi. Antigen atau vaksin *A. hydrophila* dapat diaplikasikan sebagai bahan yang dapat meningkatkan respon imun ikan lele (*Clarias* sp.) setelah dilakukan uji *in vivo*, namun perlu dilakukan uji formalin terlebih dahulu untuk membuktikan keamanan bahan tersebut.

Kata kunci: *Clarias* sp., *A. hydrophila*, uji aglutinasi, titer antibodi

AGGLUTINATION TEST *Aeromonas hydrophila* VACCINE CANDIDATE USING METHODS FORMALIN-KILLED WITH DIFFERENT CONCENTRATIONS IN SERUM CATFISH (*Clarias* sp.)

Iwis<sup>1)</sup>, M.Fadjar<sup>2)</sup>, Maftuch<sup>3)</sup>

**Abstract**

The use of antibiotics to tackle the problem of farmed fish diseases can give a high risk, because it can cause bacterial resistance, accumulation of the antibiotic residues in fish, as well as the impact on environmental pollution. Therefore, to prevent bacterial infection of *A. hydrophila* required the development of an alternative material that can enhance the immune response of fish to be able to fight off disease-carrying agents, namely the use of antigens from the bacteria and put it into the fish's body (vaccination). This study aims to determine the potential vaccine candidate *A. hydrophila* through agglutination test and its influence on the increase in antibody titer catfish (*Clarias* sp.). Method used is experimental design with Completely Randomized Design (CRD) consisting of 3 treatments and 1 control. Treatment A (2%), treatment B (3%) and treatment C (4%), controls (without vaccination). The results showed the average production of antibody titer after 1 week vaccination are in treatment C amounted to 16,667 and the lowest in treatment A is 8. The antibody titer increased after revaccination (*booster*). The highest antibody titers after revaccination are in treatment C is 128 and the lowest at A is 16. Treatment for addition of formaldehyde concentration in generating antigen to antibody titer production of catfish (*Clarias* sp.) showed a linear pattern with the equation  $y = -12+9,333x$  with coefficient  $R^2 = 0.6806$  on first vaccination and  $y = -111.11+56x$  with  $R^2 = 0.8147$  on revaccination. The relationship between the use of formalin with different concentrations in the produce antigen and the average antibody titer response produced showed increases with concentration. The resulting antigen shown to increase the production of antibody titer by agglutination test. Antigen or vaccine *A. hydrophila* can be applied as a material that

may improve the immune response of catfish (*Clarias sp.*) after being tested in vivo, but it needs to be done in advance of formalin test to prove the material safety.

**Key word:** *Clarias sp.*, *A. hydrophila*, Agglutination test, antibody titer

<sup>1)</sup> Student of Fisheries and Marine Science Faculty, University of Brawijaya

<sup>2,3)</sup> Lecture of Fisheries and Marine Science Faculty, University of Brawijaya

## 1 Pendahuluan

### Latar Belakang

Budidaya ikan secara intensif merupakan salah satu upaya yang dapat dilakukan dalam meningkatkan produksi. Padat penebaran ikan yang terlalu tinggi dapat menyebabkan ikan stres, sehingga mudah terinfeksi oleh patogen. Penyakit merupakan masalah utama yang dapat menurunkan produksi budidaya, menurunkan kualitas air bahkan menyebabkan kematian total pada ikan budidaya. Penyakit dapat disebabkan oleh beberapa jenis patogen seperti virus, parasit, jamur, dan bakteri (Ashari *et al.*, 2014).

Penyakit ikan muncul akibat ketidakseimbangan antara ikan sebagai inang, patogen, dan lingkungan. Sistem pertahanan tubuh ikan dapat terganggu akibat adanya perubahan lingkungan serta berkembangnya patogen dalam suatu wadah budidaya. Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan jenis bakteri yang bersifat patogen dan dapat menyebabkan penyakit sistematis serta mengakibatkan kematian secara massal (Haryani *et al.*, 2012). Bakteri ini dapat menginfeksi ikan air tawar pada semua umur dan dapat mematikan sampai 100%. Penyakit yang diakibatkan oleh bakteri *A. hydrophila* yaitu *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS).

Komoditas perikanan budidaya yang sering mengalami penyakit MAS yaitu ikan lele (*Clarias sp.*). Pengendalian penyakit MAS pada awalnya banyak menggunakan antibiotik. Antibiotik dapat menimbulkan residu pada ikan, sehingga dapat membahayakan kesehatan

konsumen apabila dikonsumsi. Salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk mencegah penyakit tersebut yaitu melalui vaksinasi. Tingkat perlindungan yang ditimbulkan oleh vaksinasi sangat tergantung pada jenis vaksin, kondisi ikan, dan lingkungan (Mulia dan Purbomartono, 2007).

Vaksin pada industri budidaya ikan umumnya menggunakan formula dari bakteri yang dinaktifkan dengan formalin atau pemanasan bakteri sel utuh. Inaktivasi bakteri sebagai kandidat vaksin menggunakan formalin disebut juga dengan metode *formalin-killed*. Metode ini menggunakan formalin untuk menghasilkan antigen H. Antigen H (Ag H) merupakan vaksin sel utuh (*whole cell*) yang dilemahkan dengan formalin. Ag H masih mengandung flagelum dan protein yang memungkinkan reaksi kuat terhadap antibodi (Mulia, 2007).

Berdasarkan permasalahan di atas, perlu dilakukan penelitian mengenai potensi bakteri *A. hydrophila* sebagai vaksin inaktif menggunakan metode *formalin-killed* dengan konsentrasi berbeda melalui uji aglutinasi. Peran vaksin inaktif bakteri *A. hydrophila* sebagai antigen dapat meningkatkan aktivitas sistem imun pada ikan budidaya melalui peningkatan titer antibodi, sehingga dapat mencegah infeksi bakteri *A. hydrophila*.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan dan di Laboratorium Mikrobiologi Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang pada 03 Januari - 26 Februari 2017.

## 2 Metode Penelitian

### 2.1 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah autoklaf, *beaker glass*, botol film, bunsen, cawan petri, erlenmeyer 100 ml, erlenmeyer 500 ml, gelas ukur 100 ml, gunting, hotplate, inkubator, jarum ose, *Laminar Air Flow* (LAF), lemari pendingin, mikropipet 100-1000  $\mu$ , mikropipet 10-100  $\mu$ , nampan, rak tabung reaksi, spektrofotometer, sprayer, tabung reaksi, timbangan digital, timbangan analitik, *triangle*, *vortex mixer*, spatula dan oven.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah isolat *A. hydrophila*, akuades, formalin, tisu, aluminium foil, Alkohol 70%, Kapas, kertas label, ikan lele (*Clarias* sp.), TSB (*Tryptone Soy Broth*), TSA (*Tryptone Soy Agar*), kertas bekas, benang kasar, NaCl, spiritus, plastik *wrap*.

### 2.2 Metode dan Rancangan Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian terdiri dari 3 perlakuan dan 2 kontrol dengan 3 kali ulangan.

Perlakuan yang digunakan adalah ikan lele (*Clarias* sp.) yang diinjeksi kandidat vaksin inaktif *A. hydrophila* dengan konsentrasi formalin berbeda. Perlakuan A (formalin 2%), perlakuan B (formalin 3%) dan perlakuan C (formalin 4%). Selain itu, terdapat kontrol yaitu ika tanpa vaksinasi.

### 2.3 Prosedur Penelitian

#### 2.3.1 Persiapan Penelitian

##### A. Pembuatan Media Agar Miring

Media agar miring digunakan sebagai media untuk peremajaan bakteri. Media agar miring yang digunakan yaitu TSA. Media TSA ditimbang dengan komposisi 37 gr per 1000 ml

akuades, kemudian dilarutkan sambil dipanaskan di atas hotplate sampai mendidih. Media dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 7 ml dan ditutup dengan kapas, kemudian disterilisasi dengan autoklaf 121°C 1 atm selama 15 menit. Media steril dikeluarkan dan dimiringkan sampai memadat.

##### B. Pembuatan Media TSB (*Tryptic Soy Broth*)

Media TSB (*Tryptic Soy Broth*) digunakan sebagai media kultur bakteri. Media ditimbang dengan komposisi 30 gr per 1000 ml akuades.. Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer 50 ml.. Media dimasukkan ke dalam tabung falcon masing-masing 9 ml. Mulut tabung ditutup dengan penutup. Media disterilisasi dengan autoklaf.

##### C. Kultur Bakteri *A. hydrophila*

Biakan bakteri yang sudah diremajakan pada media Agar Miring diambil dengan menggunakan jarum ose sebanyak 1 gores. Ose yang sudah ada bakteri dicelupkan pada media TSB yang sudah di persiapkan. Media disimpan pada inkubator dengan suhu 33 °C selama 24 jam. Semua kegiatan pengkulturan dilakukan secara steril.

#### 2.3.2 Pelaksanaan Penelitian

##### A. Pembuatan Kandidat Vaksin *A. hydrophila*

Biakan bakteri yang ada di dalam media TSB disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan bakteri dan media. Supernatan dibuang, sedangkan endapan ditambahkan formalin dengan 3 perlakuan (A=2%, B=3%, dan C=4%), kemudian diinkubasi 24 jam. Dilakukan uji viabilitas pada media selektif. Apabila tidak terdapat pertumbuhan bakteri, maka

pelarutformalin dibuang dengan cara disentrifugasi dan dicuci PBS sebanyak 3 kali. Kadidat vaksin ditambahkan PBS (1:1) dan siap digunakan maupun disimpan pada suhu -70°C sampai digunakan.

## B. Vaksinasi Ikan Lele (*Clarias sp.*)

Vaksinasi dilakukan mengacu pada penelitian Mulia *et al.* (2015), yaitu Antigen *whole cell A. hydrophila* diinjeksikan pada lele dumbo berukuran panjang 7-9 cm. Setiap antigen disuntikkan secara intramuscular dengan dosis 0,1 ml/ekor. Masing-masing perlakuan antigen dan kontrol (PBS) disuntikkan pada 5 ekor ikan dengan 2 kali ulangan. *Booster* (vaksinasi ulang) dengan dosis yang sama dilakukan 7 hari berikutnya.

## C. Uji Aglutinasi

Uji aglutinasi digunakan untuk mengetahui potensi kandidat vaksin bakteri yang diinaktif dengan cara mengambil darah ikan lele (*Clarias sp.*) menggunakan spuit 1 ml dan dimasukkan ke dalam eppendorf. Darah disentrifugasi untuk memisahkan antara serum dan sel darah merah. Serum darah yang terbentuk pada lapisan atas diambil sebanyak 25 µl dan dimasukkan pada sumur ke 1 dan ke 2. PBS sebanyak 25 µl dimasukkan ke sumuran ke-2 sampai dengan sumur ke-12. Serial pengenceran dilakukan dengan cara mengambil 25 µl larutan dengan menggunakan mikropipet dari sumur ke-2 sampai ke-11. Sumur ke-1 sampai ke-12 ditambahkan 25 µl antigen *A. hydrophila*. Lempeng mikropate ditutup kemudian digoyang-goyangkan secara perlahan selama 3 menit dengan gerakan memutar. Kemudian dibiarkan pada suhu kamar selama 18-24 jam.

Cara menghitung titer antibodi : 12 sumur pada mikrotiter plate diamati. Sumur paling kiri

adalah kontrol positif, sedangkan sumur yang paling kanan adalah kontrol negatif. Terbentuknya titer antibodi ditandai dengan terjadinya aglutinasi antara antigen dengan antibodi yang tampak dari munculnya lapisan keruh seperti awan dalam sumur mikropate, sedangkan pada sumur yang tidak terbentuk antibodi ditandai dengan dot pada dasar sumur yang menunjukkan adanya antigen yang mengendap (tidak terjadi aglutinasi). Perhitungan titer antibodi dimulai dari pengenceran pertama (1) sampai 10 (1/512) (dari sumur ke-2 sampai 11). Nilai titer antibodi merupakan kebalikan dari seri pengenceran. Sebagai contoh apabila terjadi aglutinasi sampai sumur ke-6 (pengenceran 1/32), maka titer antibodi yang terbentuk adalah 32.

### 2.3.3 Parameter Uji

Parameter uji dalam penelitian ini ada 2 yaitu parameter utama dan parameter penunjang. Parameter utama dalam penelitian ini adalah hasil pengamatan yaitu hasil titer antibodi. Sedangkan parameter penunjang yaitu kualitas air yang meliputi suhu, pH, dan DO..

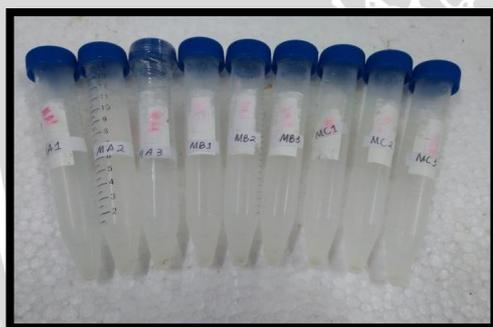
## 3 Hasil dan Pembahasan

### 3.1 Hasil Pembuatan Kandidat Vaksin *A. hydrophila*

Cara kerja formalin dalam menginaktifkan bakteri yaitu dengan mendehidrasi sel bakteri dan mengganti cairan dalam sel dengan komponen yang menyerupai gel (Purwaningsih, 2013). Jenis kandidat vaksin yang dihasilkan dengan metode formalin-*killed* disebut vaksin inaktif sel utuh (antigen H). Keuntungan dari penggunaan vaksin utuh yaitu bersifat imunogenik dan merangsang respon imun secara alami. Sedangkan keterbatasan

organisme utuh yaitu mempunyai campuran kompleks dari protein, lipid dan karbohidrat yang dapat mempersulit proses produksi, karakterisasi, dan kontrol kualitas vaksin.

Kandidat vaksin dapat digunakan setelah dilakukan uji viabilitas. Uji viabilitas menghasilkan pertumbuhan bakteri 0 koloni pada setiap konsentrasi. Menurut Alifuddin (2002), sebagai tindakan pengamanan sebelum digunakan, perlu dilakukan uji viabilitas vaksin. Vaksin aman digunakan apabila pada media kultur tidak terjadi pertumbuhan bakteri. Hasil pembuatan kandidat vaksin terlihat berwarna seperti pada Gambar 1 di bawah ini. Kandidat vaksin yang sudah jadi siap dipakai langsung maupun disimpan di suhu  $-70^{\circ}\text{C}$  sampai saat digunakan.



**Gambar 1.** Vaksin inaktif *A. hydrophila* formalin-*killed*

### 3.2 Vaksinasi

Vaksinasi pada penelitian ini dilakukan sebanyak dua kali, yaitu vaksinasi pertama dengan dosis 0,1 ml/ekor Mulia *et al.* (2004). Ikan yang sudah divaksinasi memiliki perbedaan tingkah laku dengan ikan yang tidak divaksin. Setelah divaksin, ikan berenang lebih cepat dan bergerak lebih agresif. Terjadi pembengkakan pada bagian tubuh ikan yang disuntik sesaat setelah injeksi. Namun bengkak tersebut hilang setelah dua hari. Vaksinasi kedua dilakukan 1 minggu setelah vaksinasi

pertama. Tujuan dilakukan vaksinasi kedua yaitu untuk meningkatkan respon imun ikan melalui meningkatnya antibodi (*booster*). Selama proses vaksinasi hanya terdapat 1 ikan yang mati pada perlakuan A2 dan 1 ikan pada perlakuan C3. Ikan tersebut mati pada hari kedua setelah vaksinasi pertama.

Vaksin yang diinjeksikan ke dalam tubuh ikan akan masuk ke ginjal bagian depan dan dapat menghasilkan respon imun. Vaksin yang telah masuk dalam ginjal akan difagosit oleh makrofag dan neutrofil kemudian dibawa ke timus yang mengandung sel T. Sel T akan merespon antigen tersebut ke reseptor khusus. Antigen tersebut akan dibawa menuju limfa dan terjadi pelepasan sitokin membentuk sel B. Sebagian dari sel B akan melakukan proliferasi, sedangkan sebagian lagi akan berdeferensiasi menjadi sel plasma dan sel B memori sebagai sistem kekebalan humoral (Putri *et al.*, 2013). Antibodi akan terbentuk apabila sel penghasil antibodi (sel B) telah berfungsi dengan baik.

### 3.3 Uji Aglutinasi

Uji aglutinasi yang dilakukan terhadap antibodi ikan lele (*Clarias* sp.) menjelaskan terjadi peningkatan titer antibodi selama pemeliharaan. Titer antibodi ikan lele (*Clarias* sp.) sebelum dilakukan vaksinasi (minggu ke-1) tidak dapat dihitung karena tidak terjadi aglutinasi pada sampel serum darah ikan lele (*Clarias* sp.). Aglutinasi tidak terbentuk pada semua perlakuan sehingga nilai titer antibodi 0. Hal ini karena belum adanya rangsangan pembentukan antibodi oleh antigen sejenis.. Titer antibodi mencerminkan kemampuan pertahanan tubuh ikan terhadap infeksi bakteri melalui respon imun spesifik. Semakin tinggi nilai titer antibodi, maka diharapkan

kemampuan perlindungan terhadap infeksi juga semakin tinggi. Antibodi yang beredar dalam darah akan menetralkan molekul toksik yang diproduksi oleh bakteri (Purwaningsih, 2013).

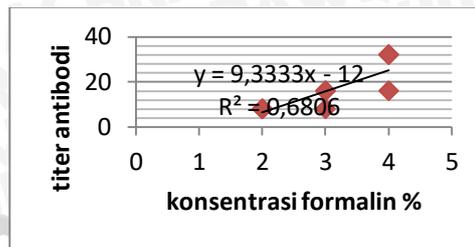
Peningkatan titer antibodi lele terjadi secara signifikan melalui metode injeksi pada intramuskular (Mulia *et al.*, 2013). Antibodi spesifik dapat terbentuk 1 minggu setelah vaksinasi. Rerata peningkatan titer antibodi setelah 1 minggu dapat dilihat dengan terjadi aglutinasi antara antibodi spesifik dan antigennya pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Rerata titer antibodi setelah 1 minggu vaksinasi.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± SD
	1	2	3		
A	8	8	8	24	8
B	16	8	16	40	13,333 ± 4,619
C	32	16	32	80	16,667 ± 9,238
<b>Total</b>				144	

Nilai rerata produksi titer antibodi ikan lele (*Clarias* sp.) setelah 1 minggu vaksinasi terendah terdapat pada perlakuan A (formalin 2%) yaitu sebesar 8, kemudian diikuti dengan perlakuan B (formalin 3%) dan C (formalin 4%) berturut-turut sebesar 13,333 dan 16,667. Analisa sidik ragam menunjukkan bahwa nilai  $F_{5\%} < F_{hitung} < F_{5\%}$ , yaitu sebesar 7,8, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian kandidat vaksin inaktif *A. hydrophila* yang diinaktif dengan konsentrasi formalin yang berbeda memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap produksi titer antibodi ikan lele (*Clarias* sp.) setelah 1 minggu vaksinasi.

Kemudian dilakukan analisa regresi untuk mengetahui hubungan konsentrasi formalin yang digunakan untuk menghasilkan antigen dengan produksi titer antibodi (Gambar 2).



**Gambar 2.** Grafik hubungan pengaruh konsentrasi formalin berbeda dalam menghasilkan antigen *H. A. hydrophila* terhadap nilai titer antibodi ikan lele (*Clarias* sp.)

Penambahan konsentrasi formalin dalam menghasilkan antigen *H. A. hydrophila* terhadap nilai titer antibodi lele (*Clarias* sp.) di atas didapatkan persamaan linear  $y = -12 + 9,333x$  yang memiliki nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,68.

Titer antibodi pada ikan yang tidak divaksinasi (kontrol) tidak terjadi peningkatan dikarenakan antigen tidak dapat berikatan dengan serum ikan kontrol. Serum ikan yang tidak divaksinasi diduga belum terjadi rangsangan terhadap antibodi spesifik, sehingga antigen yang diteteskan ke dalam serum tidak mampu mengikat molekul yang terdapat pada serum tersebut.

Kemampuan antigen untuk menghasilkan antibodi spesifik akan semakin terlihat setelah dilakukan vaksinasi ulang (*booster*) (Tabel 2). Peningkatan antibodi pada ikan yang divaksin mengindikasikan adanya pengaktifan respon imun spesifik terhadap antigen (Setyawan, *et al.*, 2007).

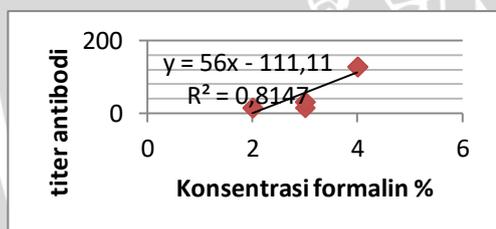
**Tabel 2.** Rerata Produksi titer antibodi ikan lele (*Clarias* sp.) setelah vaksinasi ulang (*booster*).

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± SD
	1	2	3		
A	16	16	16	48	16
B	32	16	32	80	27 ± 9,238
C	128	128	128	384	128
<b>Total</b>				512	

Nilai rerata titer antibodi ikan lele (*Clarias* sp.) setelah vaksinasi ulang terendah terdapat pada perlakuan A (formalin 2%) yaitu sebesar 16, kemudian diikuti dengan perlakuan B (formalin 3%) dan C (formalin 4%) berturut-turut sebesar 27 dan 128.

Analisa sidik ragam menunjukkan bahwa nilai F hitung > F 5% dan F 1% yaitu sebesar 403, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian kandidat vaksin inaktif *A. hydrophila* yang diinaktif dengan konsentrasi formalin yang berbeda memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap produksi titer antibodi ikan lele (*Clarias* sp.) setelah vaksinasi ulang.

Kemudian dilakukan analisa regresi untuk mengetahui hubungan konsentrasi formalin yang digunakan untuk menghasilkan antigen dengan produksi titer antibodi (Gambar 3).



**Gambar 3.** Hubungan pengaruh Formalin dengan konsentrasi berbeda dalam menghasilkan antigen H *A. hydrophila* terhadap nilai titer antibodi ikan lele (*Clarias* sp.) setelah booster.

Penambahan konsentrasi formalin dalam menghasilkan antigen H *A. hydrophila* terhadap nilai titer antibodi lele (*Clarias* sp.) di atas didapatkan persamaan linear  $y = -111,11 + 56x$  yang memiliki nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,8147.

Parameter penunjang penelitian ini yaitu kualitas air meliputi suhu, pH, dan DO. Nilai suhu selama penelitian berkisar antar 23-27°C. Menurut Mulia dan Purbamartono (2007), lele sangat toleran terhadap perubahan

suhu air yang cukup tinggi. Ikan lele masih dapat tumbuh pada rentang suhu 20-35°C. pH yang didapatkan berkisar antara 8,00-8,54. Hermawan *et al.* (2014) menyatakan bahwa derajat keasaman air media hidup ikan lele optimal pada kisaran 6,5-9. Pengukuran oksigen terlarut berkisar antara 4,78-6,61 mg/L. Stickney (2005) menyatakan bahwa konsentrasi oksigen yang baik untuk ikan lele tidak boleh kurang dari 3 mg/l.

## 4 Kesimpulan dan Saran

### 4.1 Kesimpulan

Kandidat vaksin *A. hydrophila* yang diinaktif menggunakan formalin dengan konsentrasi berbeda berpotensi meningkatkan titer antibodi ikan lele (*Clarias* sp.) setelah uji aglutinasi. Kandidat vaksin memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap produksi titer antibodi ikan lele dengan hasil terbaik pada perlakuan C = 4%, yaitu menghasilkan rata-rata titer antibodi dari 16,667 pada minggu pertama meningkat menjadi 128 setelah vaksinasi ulang.

### 4.2 Saran

Dibutuhkan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui konsentrasi formalin yang optimal dalam menghasilkan vaksin yang bermutu. Konsentrasi formalin tersebut diharapkan masih di bawah standar baku pangan kandungan formalin apabila terpapar pada ikan yang akan dikonsumsi, serta perlu dilakukan uji SEM untuk mengetahui struktur antigen.

### Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Cucun Herlina, Mariana Rahmatika, dan Ulva Choirul yang terlibat dalam jalannya penelitian ini

## Daftar Pustaka

- Alifuddin, M. 2002. Imunostimulan pada hewan akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **1**(2): 87-92.
- Ashari, C., R. A. Tumbol dan M. E. F. Kolopita. 2014. Diagnosa penyakit bakterial pada ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan pada jaring tancap di Danau Tondano. *Budidaya Perairan*. **2** (3): 24–30.
- Haryani, A., R. Grandiosa, I. D. Buwono dan A. Santika. 2012. Uji efektivitas daun pepaya (*Carica papaya*) untuk pengobatan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas koki (*Carassius auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **3** (3): 213-220.
- Hermawan, T. E. S. A., A. Sudaryono dan S. B. Prayitno. 2014. Pengaruh padat tebar berbeda terhadap pertumbuhan dan kelulushidupan benih lele (*Clarias gariepinus*) dalam media bioflok. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **3** (3): 35-42.
- Mulia, D. S. 2007. Keektivan vaksin *Aeromonas hydrophila* untuk mengendalikan penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) pada gurami (*Ospbronemus gouramy*). *Jurnal Pembangunan Pedesaan*. **7**(1): 43-52.
- Mulia, D. S. dan C. Purbomartono. 2007. Perbandinga efikasi vaksin produk intra dan ekstraseluler *Aeromonas hydrophila* untuk menanggulangi penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) pada lele dumbo (*Claris sp.*). *Jurnal Perikanan*. **9**(2): 173-181.
- Mulia, D. S., S. Wahyuningsih, H. Maryanto dan C. Purbamartono. 2015. Uji lapang pakan bervaksin *Aeromonas hydrophila* pada lele dumbo di daerah Cilacap. *Techno*. **16**(2): 85-97.
- Purwaningsih, U. 2013. Vaksin koktail sel utuh untuk pencegahan penyakit Mycoacteriosis dan *Motile Aeromonas Septicemia* pada ikan gurame (*Ospbronemus Gouramy*). Tesis. IPB: Bogor.
- Putri, R. A., Wardiyanto dan A. Setyawan. 2013. Penyimpanan vaksin inaktif *whole cell* dengan penambahan gliserol. *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. **1**(2): 79-86.
- Setyawan, A., S. Hudaidah, Z. Z. Ronapati dan Sumino. 2007. Imunogenitas vaksin inaktif *whole cell Aeromonas salmonicida* pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberaya Perairan*. 17-21.
- Stickney, R. R. 2005. Aquaculture: An Introductory Text. Oxford: CABI Publishing, 265 p.