

# IMUNOGENISITAS ANTIGEN *WHOLE CELL* BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

(*Immunogenicity Antigen Bacteria Whole Cell Aeromonas hydrophila*)

**Dini Siswani Mulia, Widya Apriyanti, Heri Maryanto, dan Cahyono Purbomartono**

P. Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Purwokerto  
Jalan Raya Dukuh Waluh PO BOX 202 Purwokerto 53182 Tel. 0281-636751, Fax. 0281-637239,  
e-mail: dsiswanimulia@yahoo.com

## Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui imunogenisitas antigen *whole cell Aeromonas hydrophila* dari beberapa strain bakteri *A. hydrophila* yang diberikan pada lele dumbo (*C. gariepinus*). Penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan, yaitu A : strain GPW-02, B : strain KLK -11, C : strain GLR-08, D : strain KLK-14, E : strain KLK-05, F : kontrol (PBS pH 7,0) dengan 3 kali ulangan. Ikan uji yang digunakan adalah lele dumbo berumur sekitar 2 bulan dengan ukuran panjang 10-13 cm dan berat antara 12,2-14,5 g. Parameter utama yang diamati adalah titer antibodi dan uji reaksi silang, sedangkan parameter pendukungnya adalah parameter kualitas air, meliputi suhu air, pH, dan oksigen terlarut (*Dissolved Oxygen* = DO) yang diamati setiap minggu. Titer antibodi diamati 3 kali, yaitu sebelum divaksinasi, seminggu setelah vaksinasi *booster* dan dua minggu setelah vaksinasi *booster*. Kemudian dilakukan uji reaksi silang pada antigen dengan titer antibodi yang tinggi, yaitu  $\geq 2^5$ . Data titer antibodi dianalisis menggunakan Analisis Sidik Ragam (*Analysis of Variance/ANOVA*), dan apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf uji 5% (Steel & Torrie, 1993), sedangkan data kualitas air dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa antigen *whole cell A. hydrophila* berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap imunogenisitas ikan lele dumbo. Strain yang memiliki imunogenisitas paling tinggi adalah strain A (antigen *whole cell A. hydrophila* strain GPW-02). Parameter kualitas air selama penelitian dijaga pada kisaran optimal, yaitu suhu air 25-28°C, pH air 7,1-7,9, dan DO 6,6-6,8 mg/L.

Kata Kunci : imunogenisitas, antigen, *whole cell*, bakteri, *Aeromonas hydrophila*

## Pendahuluan

Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri Gram negatif yang sering menyerang dan menginfeksi ikan. Pada umumnya bakteri *A. hydrophila* dapat menginfeksi secara luas pada hewan, termasuk mamalia, tetapi yang banyak diketahui dapat menyebabkan penyakit pada ikan air tawar yang dibudidayakan (Yu *et al.*, 2004). Bakteri ini bersifat patogen oportunistik

sehingga selalu ada di air dan hidup berdampingan dengan organisme air. Bakteri *A. hydrophila* menyebabkan penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) dan dapat menginfeksi ikan terutama pada kondisi ikan stress atau bergabung dengan patogen lainnya sebagai penginfeksi sekunder (Harikrishnan & Balasundaram, 2005). Bakteri ini sangat penting dalam budidaya ikan air tawar karena sering

menimbulkan wabah penyakit dengan tingkat kematian tinggi (80-100%) dalam waktu singkat (1-2 minggu) (Kamiso, 2004). Gejala penyakit yang ditimbulkan seperti halnya penyakit bakteri Gram negatif septicemia antara lain inflamasi dan lesi pada mulut dan insang, hemorhagik pada sirip tubuh, mata menonjol (*exophthalmia* atau *popeye*), perut kembung, ginjal membengkak, usus berisi mucus berwarna kekuning-kuningan (Kamiso, 2004; Harikrishnan & Balasundaram, 2005).

Salah satu upaya pengendalian penyakit yang diakibatkan bakteri *A. hydrophila* adalah dengan cara vaksinasi. Pengembangan vaksin telah dilakukan untuk pengendalian penyakit baik untuk ikan air tawar, payau, maupun ikan laut dan beberapa telah diproduksi secara komersial. Prinsip penggunaan vaksin adalah untuk meningkatkan daya tahan inang dengan pertahanan humoral yang bersifat spesifik berupa antibodi (Ab). Vaksin yang dibuat dari bakteri *A. hydrophila* bisa berupa sel utuh (*whole cell*) yang dilemahkan dengan pemberian formalin, *supernatan*, *complete* (gabungan *supernatan* dan *whole cell*), atau bagian dari bakteri berupa *debris*, sitoplasma, protein *debris* dan sitoplasma dengan berat molekul tertentu, flagella, pili, dan lipopolisakarida (LPS) dengan tingkat imunogenik yang bervariasi. Selain itu, bakteri *A. hydrophila* memiliki banyak strain dan apabila dibuat vaksin, memiliki imunogenisitas yang berbeda-beda. Variasi imunogenik vaksin salah satunya dipengaruhi oleh patogenisitas strain bakteri *A. hydrophila* yang digunakan. Oleh karena itu, perlu diketahui tingkat imunogenisitas dari strain bakteri *A. hydrophila* sehingga dapat diketahui kualitasnya sebagai referensi untuk dijadikan bahan vaksin.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui imunogenisitas antigen *whole cell A. hydrophila* dari

beberapa strain bakteri *A. hydrophila* yang diberikan pada lele dumbo (*C. gariepinus*).

## Bahan dan Metode

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur bakteri *A. hydrophila*, medium GSP (*Glutamate Starch Phenile*), medium TSA (*Tryptone Soya Agar*), medium TSB (*Tryptone Soya Broth*), larutan PBS (*Phosphate Buffer Saline*), formalin 2 %, dan hewan uji. Hewan uji yang digunakan adalah ikan lele dumbo sebanyak 180 ekor, berukuran panjang 10-13 cm yang diperoleh dari kolam budidaya di wilayah Banyumas. Alat yang digunakan adalah beberapa alat untuk pembuatan antigen *whole cell A. hydrophila* dan uji imunogenisitas pada lele dumbo, yaitu tabung reaksi, rak tabung, cawan petri, beker glass, jarum ose lurus, pipet tetes, erlenmeyer, drugalsky, lampu bunsen, corong, tabung sentrifuse, tabung konikal, tabung eppendorf, pengaduk, autoclave, mikropipet dan tip, spatula, vortex, shaker, inkubator, timbangan analitik, refrigerator, sentrifuse, ember plastik sebanyak 18 buah, timbangan untuk mengukur berat ikan, penggaris untuk mengukur panjang ikan, alat suntik, dan alat pengukur kualitas air (thermometer, pH meter, dan DO meter).

### A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan yang diterapkan adalah penggunaan antigen *whole cell A. hydrophila* dari 6 strain, yaitu:

A= Antigen *whole cell A. hydrophila* strain GPW-02

B= Antigen *whole cell A. hydrophila* strain KKK-11

C= Antigen *whole cell A. hydrophila* strain GLR-08

D= Antigen *whole cell A. hydrophila* strain KLK-14

E= Antigen *whole cell A. hydrophila* strain KLK-05

F= kontrol (PBS pH 7,0)

## B. Prosedur Penelitian

### 1. Pembuatan Antigen *Whole Cell A. hydrophila* dari Beberapa Isolat

Semua isolat *A. hydrophila* ditumbuhkan pada medium GSP dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kemudian satu koloni bakteri dari medium GSP dipindahkan ke dalam medium TSB cair 10 ml dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 - 24 jam. Kultur bakteri dari medium TSB, kemudian dituang pada medium TSA cawan petri besar selama 24 jam pada suhu 37°C. Panen bakteri dengan menggunakan drugalsky dan pencucian dengan larutan PBS dilakukan sebanyak 3 kali, kemudian ditambahkan formalin 2% dan digojog selama 24 jam. Selanjutnya disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Cairan yang berada di bagian atas pada tabung sentrifuse (*supernatan*) dibuang. Endapan dicuci dengan PBS dan sentrifugasi dilakukan 3 kali. Endapan (*antigen whole cell*) dilarutkan dengan PBS sebanyak 2 ml. Selanjutnya, antigen diuji viabilitasnya pada medium selektif *Aeromonas-Pseudomonas* (GSP, Merck) secara goresan.

### 2. Uji Imunogenisitas pada Lele Dumbo

Antigen *whole cell A. hydrophila* dari semua isolat selanjutnya diuji imunogenisitasnya pada lele dumbo berukuran panjang 10-13 cm. Setiap jenis antigen disuntikkan secara intraperitoneal dengan dosis 0,1 ml/ekor dengan kepadatan bakteri  $10^8$  sel/ekor. Masing-masing perlakuan antigen dan kontrol (PBS) disuntikkan pada 8 ekor ikan dengan 3 kali ulangan. *Booster* (vaksinasi ulang) dengan dosis yang sama dilakukan 7 hari berikutnya. Satu

dan dua minggu setelah *booster* dilakukan pengambilan sampel darah dengan jarum suntik (spuit) steril melalui *arteri caudalis*. Selanjutnya dilakukan uji titer antibodi dengan metode aglutinasi pada mikropipet (Anderson, 1974).

### 3. Parameter

Parameter yang diamati meliputi parameter utama dan pendukung. Parameter utama meliputi titer antibodi dan uji reaksi silang, sedangkan parameter pendukung meliputi parameter kualitas air, yaitu suhu, pH, dan oksigen terlarut.

#### a. Titer Antibodi

Uji titer antibodi diamati dengan metode Anderson (1974) dan dilakukan 3 kali, yaitu sebelum divaksinasi, seminggu dan dua minggu setelah *booster*. Darah lele dumbo diambil dengan jarum suntik (spuit) steril melalui *arteri caudalis*, kemudian darah ditampung dalam tabung eppendorf, didiamkan dalam suhu kamar selama 1 jam, kemudian didiamkan dalam refrigerator pada suhu 4°C selama 18-24 jam. Bagian *supernatan* yang merupakan serum darah diambil dengan mikropipet. Uji titer antibodi dimulai dengan mengisi 25 µl PBS pada mikrotiter plate sumuran no. 2 sampai 12. Selanjutnya, serum sebanyak 25 µl diisi pada sumuran no. 1 dan 2. Pengenceran berseri dilakukan dengan cara mengambil 25 µl campuran PBS dan serum dari sumuran no. 2 dan dimasukkan pada sumuran no. 3, begitu seterusnya sampai no. 11. Antigen *A. hydrophila* sebanyak 25 µl dengan kepadatan  $10^8$  CFU/ml ditambahkan ke dalam sumuran no. 1 sampai 12. Selanjutnya lempeng mikrotiter plate ditutup kemudian digoyang-goyangkan pelan-pelan dengan posisi mendatar selama 3 menit dengan gerakan memutar agar campuran homogen. Lalu, didiamkan pada suhu kamar selama 1 jam dan dimasukkan ke dalam

refrigerator dengan suhu 4°C selama 18-24 jam. Nilai titer antibodi ditentukan berdasarkan tingkat pengenceran tertinggi yang masih menunjukkan reaksi aglutinasi. Sumuran yang hanya diisi serum dan antigen berfungsi sebagai kontrol positif dan sumuran yang hanya diisi antigen dan PBS berfungsi sebagai kontrol negatif.

#### *b. Uji Reaksi Silang*

Uji reaksi silang dilakukan pada antigen dengan titer antibodi yang tinggi, yaitu  $\geq 2^5$ . Uji ini dilakukan untuk mencari antigen yang bisa bereaksi positif dengan dirinya sendiri maupun dengan antigen lain.

#### *c. Suhu*

Pengukuran suhu air menggunakan thermometer celcius yaitu dengan cara mencelupkan thermometer ke dalam air secara vertikal dengan kedalaman  $\pm 10$  cm dari permukaan air dan dibiarkan  $\pm 10$  menit, kemudian dilihat nilai konstanannya.

#### *d. pH*

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yaitu dengan cara mencelupkan pH meter ke dalam air dan dibiarkan beberapa menit sampai alat tersebut menunjukkan nilai konstanannya.

#### *e. Oksigen Terlarut*

Pengamatan oksigen terlarut dilakukan satu minggu sekali selama 3 minggu. Pengukuran oksigen terlarut menggunakan alat DO meter, yaitu dengan cara mencelupkan ke air sampel, kemudian dibiarkan beberapa menit sampai alat tersebut menunjukkan nilai konstanannya.

### **C. Analisis Data**

Pengamatan titer antibodi dilakukan dengan metode deskriptif. Data yang terkumpul dari uji titer antibodi ditransformasikan ke dalam bentuk logaritma (data log 2). Selanjutnya, data titer antibodi dianalisis dengan menggunakan analisis sidik

ragam (*Analysis of variance/ANOVA*) untuk mengetahui pengaruh masing-masing perlakuan. Apabila data yang telah dianalisis sidik ragam terdapat perbedaan yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf uji 5% (Steel & Torrie, 1993).

## **Hasil dan Pembahasan**

### **A. Titer Antibodi**

Kemampuan ikan untuk memproduksi antibodi terhadap *A. hydrophila* pada masing-masing perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda-beda pada seminggu dan dua minggu setelah *booster* (Tabel 1.)

Hasil pengukuran titer antibodi dapat diketahui berdasarkan kemampuan antibodi di dalam serum dalam melakukan aglutinasi terhadap antigen *A. hydrophila*. Pada awal penelitian tepatnya pada minggu ke-0 rata-rata titer antibodi pada semua ikan yaitu  $2^0(1)$ , hal tersebut terjadi karena ikan uji belum divaksinasi sehingga ikan uji belum memproduksi antibodi. Satu minggu setelah vaksinasi *booster* yaitu pada minggu ke-2 terlihat adanya kecenderungan peningkatan titer antibodi yang signifikan ( $P < 0,05$ ). Perlakuan yang divaksin berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan perlakuan yang tidak divaksin (kontrol). Hal tersebut menunjukkan bahwa penggunaan vaksin dari beberapa strain bakteri *A. hydrophila* dapat meningkatkan titer antibodi ( $P < 0,05$ ). Menurut Subowo (1993), penyuntikan suspensi asing akan membangkitkan produksi antibodi yang spesifik terhadap substansi asing tersebut. Pendapat ini juga didukung oleh Anderson (1974) yang menyatakan antibodi spesifik akan memberikan kekebalan saat kondisi ideal, yaitu dua atau tiga minggu setelah rangsangan. Perlakuan F (kontrol) memiliki titer antibodi di atas  $2^0$ , yaitu sebesar  $2^2$ . Kenaikan ini diduga sebagai reaksi

alamiah, karena setiap individu ikan memiliki sistem pertahanan tubuh yang memungkinkan adanya respons imun alamiah, tetapi biasanya kecil. Sistem pertahanan tubuh ikan terdiri dari dua macam, yaitu sistem pertahanan nonspesifik dan spesifik. Sistem pertahanan nonspesifik berfungsi untuk melawan segala jenis patogen, bersifat permanen, diturunkan kepada anaknya, dan tidak perlu adanya rangsangan. Pada ikan, pertahanan pertama untuk melawan patogen

terdapat pada permukaan tubuh. Secara fisik, daerah permukaan tubuh dapat menghambat masuknya patogen ke dalam tubuh ikan meliputi mukus, kulit, insang, dan saluran gastrointestinal. Sistem pertahanan spesifik berfungsi untuk mempertahankan diri terhadap penyakit tertentu dan pembentukannya memerlukan rangsangan terlebih dahulu. Rangsangan dapat terjadi secara alami dan buatan atau dengan vaksinasi (Ellis, 1988).

Tabel 1. Kemampuan ikan untuk memproduksi antibodi terhadap *A. hydrophila* pada masing-masing perlakuan pada seminggu dan dua minggu setelah *booster*

| No | Perlakuan/ulangan  | Titer Antibodi Pada Minggu Ke-n |                   |                    |                |
|----|--------------------|---------------------------------|-------------------|--------------------|----------------|
|    |                    | 0                               | 2                 | 3                  |                |
| 1  | A (strain GPW-02)  | ul 1                            | 2 <sup>0</sup>    | 2 <sup>7</sup>     | 2 <sup>5</sup> |
|    |                    | 2                               | 2 <sup>0</sup>    | 2 <sup>5</sup>     | 2 <sup>5</sup> |
|    |                    | 3                               | 2 <sup>0</sup>    | 2 <sup>5</sup>     | 2 <sup>5</sup> |
|    | Rata-rata          | 1 <sup>a</sup>                  | 64 <sup>a</sup>   | 32 <sup>bc</sup>   |                |
| 2  | B (strain KLK -11) | ul 1                            | 2 <sup>0</sup>    | 2 <sup>4</sup>     | 2 <sup>4</sup> |
|    |                    | 2                               | 2 <sup>0</sup>    | 2 <sup>4</sup>     | 2 <sup>8</sup> |
|    |                    | 3                               | 2 <sup>0</sup>    | 2 <sup>4</sup>     | 2 <sup>8</sup> |
|    | Rata-rata          | 1 <sup>a</sup>                  | 16 <sup>b</sup>   | 176 <sup>ab</sup>  |                |
| 3  | C (strain GLR-08)  | ul 1                            | 2 <sup>0</sup>    | 2 <sup>5</sup>     | 2 <sup>8</sup> |
|    |                    | 2                               | 2 <sup>0</sup>    | 2 <sup>6</sup>     | 2 <sup>8</sup> |
|    |                    | 3                               | 2 <sup>0</sup>    | 2 <sup>6</sup>     | 2 <sup>8</sup> |
|    | Rata-rata          | 1 <sup>a</sup>                  | 53,3 <sup>a</sup> | 256 <sup>a</sup>   |                |
| 4  | D (strain KLK-14)  | ul 1                            | 2 <sup>0</sup>    | 2 <sup>5</sup>     | 2 <sup>9</sup> |
|    |                    | 2                               | 2 <sup>0</sup>    | 2 <sup>6</sup>     | 2 <sup>7</sup> |
|    |                    | 3                               | 2 <sup>0</sup>    | 2 <sup>7</sup>     | 2 <sup>8</sup> |
|    | Rata-rata          | 1 <sup>a</sup>                  | 74,7 <sup>a</sup> | 298,7 <sup>a</sup> |                |
| 5  | E (strain KLK-05)  | ul 1                            | 2 <sup>0</sup>    | 2 <sup>5</sup>     | 2 <sup>4</sup> |
|    |                    | 2                               | 2 <sup>0</sup>    | 2 <sup>6</sup>     | 2 <sup>3</sup> |
|    |                    | 3                               | 2 <sup>0</sup>    | 2 <sup>6</sup>     | 2 <sup>3</sup> |
|    | Rata-rata          | 1 <sup>a</sup>                  | 53,3 <sup>a</sup> | 10,7 <sup>c</sup>  |                |
| 6  | F (PBS pH 7,0)     | ul 1                            | 2 <sup>0</sup>    | 2 <sup>2</sup>     | 2 <sup>4</sup> |
|    |                    | 2                               | 2 <sup>0</sup>    | 2 <sup>2</sup>     | 2 <sup>4</sup> |
|    |                    | 3                               | 2 <sup>0</sup>    | 2 <sup>2</sup>     | 2 <sup>4</sup> |
|    | Rata-rata          | 1 <sup>a</sup>                  | 4 <sup>c</sup>    | 16 <sup>c</sup>    |                |

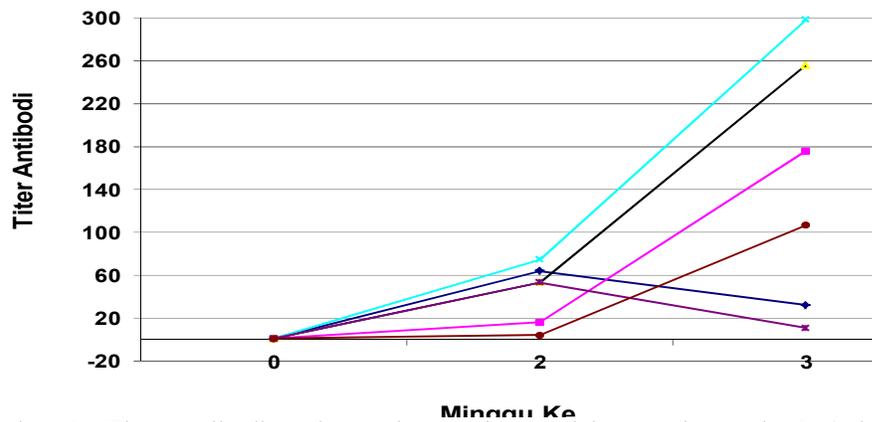
Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti huruf superscript yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT dengan taraf uji 5 %. Minggu ke-0= sebelum divaksinasi, Minggu ke-2= satu minggu setelah *booster*, Minggu ke-3= dua minggu setelah *booster*

Dua minggu setelah vaksinasi *booster* yaitu pada minggu ke-3 terjadi

peningkatan titer antibodi, kecuali pada strain A dan strain E. Penurunan titer

antibodi yaitu pada strain A dan E dapat disebabkan karena kemampuan respons ikan yang lemah dalam mengaglutinasi adanya senyawa asing. Titer antibodi pada strain B, C, dan D lebih tinggi

dibandingkan strain A dan E, hal ini diduga karena adanya variasi genetik pada strain tersebut. Titer antibodi pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Titer antibodi pada masing-masing perlakuan minggu ke-0 (sebelum vaksinasi), minggu ke-2 (satu minggu setelah *booster*), dan minggu ke-3 (dua minggu setelah *booster*). A : strain GPW-02, B : strain KLK -11, C : strain GLR-08, D: strain KLK-14, E : strain KLK-05, F : kontrol (PBS pH 7,0)

Hasil penelitian tersebut memperkuat penemuan dan pendapat yang mengatakan bahwa isolat *A. hydrophila* mempunyai variasi genetik (Plumb; 1984; Kamiso *et al.*, 1992). Variasi tersebut ternyata tidak saja pada jenis antigen tetapi juga besarnya titer antibodi yang terbentuk (Kamiso *et al.*, 1997). Vaksin *A. hydrophila* yang diberikan pada lele dumbo dapat merangsang respons imun humoral berupa pembentukan antibodi (Subowo, 1993).

**B. Uji Reaksi Silang**

Hasil uji reaksi silang dilakukan untuk mengetahui imunogenisitas antigen *whole cell A. hydrophila* dari beberapa strain bakteri *A. hydrophila* yang diberikan pada lele dumbo (*C. gariepinus*). Strain bakteri yang dipilih untuk uji reaksi silang yaitu, A (strain

GPW-02), C (strain KLK-11), dan D (strain KLK-14). Ketiga strain tersebut menghasilkan titer antibodi sebesar  $\geq 2^5$  pada satu minggu setelah vaksinasi *booster* maupun dua minggu setelah vaksinasi *booster*. Strain bakteri *A. hydrophila* dipilih karena dapat merangsang respons imun humoral yang lebih tinggi pada ikan (Mulia & Purbomartono, 2004).

Uji reaksi silang antigen terpilih, yaitu A (strain GPW-02), C (strain KLK-11), dan D (strain KLK-14) berperan sebagai antibodi direaksikan dengan antigen H dari 5 isolat *A. hydrophila* yang berperan sebagai antigen. Uji reaksi silang dilakukan untuk mencari antigen yang bisa bereaksi positif dengan dirinya sendiri maupun dengan antigen lain. Hasil uji reaksi silang selengkapnya disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Reaksi Silang

| Antibodi | Perlakuan | Antigen           |                   |                   |                   |                   |
|----------|-----------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|          |           | A                 | B                 | C                 | D                 | E                 |
| Serum    | A1        | 2 <sup>7</sup>    | 2 <sup>8</sup>    | 2 <sup>8</sup>    | 2 <sup>9</sup>    | 2 <sup>8</sup>    |
|          | A2        | 2 <sup>9</sup>    | 2 <sup>9</sup>    | 2 <sup>8</sup>    | 2 <sup>10</sup>   | 2 <sup>9</sup>    |
|          | A3        | 2 <sup>10</sup>   |
|          | Rata-rata | 2 <sup>9,12</sup> | 2 <sup>9,22</sup> | 2 <sup>9,00</sup> | 2 <sup>9,73</sup> | 2 <sup>9,22</sup> |
| Serum    | C1        | 2 <sup>7</sup>    | 2 <sup>7</sup>    | 2 <sup>5</sup>    | 2 <sup>5</sup>    | 2 <sup>7</sup>    |
|          | C2        | 2 <sup>6</sup>    | 2 <sup>6</sup>    | 2 <sup>3</sup>    | 2 <sup>8</sup>    | 2 <sup>9</sup>    |
|          | C3        | 2 <sup>7</sup>    | 2 <sup>7</sup>    | 2 <sup>5</sup>    | 2 <sup>6</sup>    | 2 <sup>7</sup>    |
|          | Rata-rata | 2 <sup>6,73</sup> | 2 <sup>6,73</sup> | 2 <sup>4,58</sup> | 2 <sup>6,87</sup> | 2 <sup>8,00</sup> |
| Serum    | D1        | 2 <sup>4</sup>    | 2 <sup>6</sup>    | 2 <sup>6</sup>    | 2 <sup>2</sup>    | 2 <sup>4</sup>    |
|          | D2        | 2 <sup>5</sup>    | 2 <sup>3</sup>    | 2 <sup>3</sup>    | 2 <sup>3</sup>    | 2 <sup>4</sup>    |
|          | D3        | 2 <sup>5</sup>    | 2 <sup>3</sup>    | 2 <sup>4</sup>    | 2 <sup>3</sup>    | 2 <sup>3</sup>    |
|          | Rata-rata | 2 <sup>4,73</sup> | 2 <sup>4,73</sup> | 2 <sup>4,87</sup> | 2 <sup>2,73</sup> | 2 <sup>3,73</sup> |

Keterangan : A : strain GPW-02, B : strain KLK -11, C : strain GLR-08, D : strain KLK-14, E : strain KLK-05, F : kontrol (PBS pH 7,0)

Berdasarkan pada hasil uji reaksi silang diketahui bahwa strain yang memiliki imunogenisitas paling tinggi adalah strain A (Antigen *whole cell A. hydrophila* strain GPW-02). Dalam penelitian ini setiap jenis antigen disuntikkan secara intraperitoneal dengan dosis 0,1 ml/ekor dengan kepadatan bakteri 10<sup>8</sup> sel/ekor. Tingkat perlindungan yang ditimbulkan oleh vaksinasi sangat tergantung pada jenis dan kualitas vaksin, cara vaksinasi, kondisi ikan, dan lingkungan hidupnya (kualitas air) (Souter, 1984). Dengan demikian bahwa antigen *A. hydrophila* yang memiliki imunogenisitas tertinggi pada uji reaksi silang, memiliki kemampuan yang lebih baik dalam melindungi ikan terhadap serangan bakteri *A. hydrophila*, sehingga sangat baik sebagai bahan untuk pembuatan vaksin.

### C. Kualitas Air

Data kualitas air yang diukur dalam penelitian ini meliputi suhu, pH, dan oksigen terlarut. Berdasarkan pada hasil pengamatan diketahui bahwa suhu air selama penelitian antara 25 – 28,5°C. Kisaran suhu tersebut masih normal

untuk pertumbuhan lele dumbo. Menurut Bachtiar (2007) suhu minimum dalam budidaya ikan lele dumbo yaitu 20°C, sedangkan suhu maksimumnya 30°C. Derajat keasaman (pH) air selama penelitian antara 7,1-7,9. Kisaran tersebut cukup baik untuk pertumbuhan ikan lele dumbo. Bachtiar (2007), menyatakan bahwa kisaran pH yang baik untuk budidaya ikan lele dumbo yaitu antara 6,5-8. Selanjutnya Soetomo (1998) berpendapat bahwa pH air kurang dari 4 dan lebih dari 11 akan membunuh benih ikan, sedangkan pH antara 6,5-9 baik untuk budidaya ikan lele. Oksigen terlarut selama penelitian berkisar antara 6,6-6,8 mg/L yang masih optimal untuk pertumbuhan dan perkembangan ikan lele dumbo. Mulyanto (1992) menyatakan bahwa oksigen sangat esensial bagi pernafasan dan merupakan komponen utama bagi metabolisme ikan. Ikan memerlukan oksigen guna pembakaran makanan untuk menghasilkan aktivitas berenang, pertumbuhan, reproduksi, atau sebaliknya. Oleh karena itu, tampak dengan jelas bahwa ketersediaan oksigen bagi ikan menentukan aktivitas ikan (Zonneveld *et al.*, 1991).

### Ucapan Terima Kasih

Hasil penelitian ini merupakan bagian dari hasil penelitian Hibah Bersaing. Kami mengucapkan terima kasih kepada oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional yang telah membiayai penelitian ini.

### Daftar Pustaka

- Anderson, D.P. 1974. Fish Immunology. In Sniestko, S. F and H. R. Axerlod (Eds). Disease of Fish. TFH Ublication, Inc Ltd, Hongkong. P : 273.
- Bachtiar, Y. 2007. Panduan Lengkap Budidaya Lele Dumbo. Agromedia. Jakarta.
- Ellis, A.E. 1988. Optimizing factors for fish vaccination. In: Fish vaccination. A.E. Ellis (Ed.). Academic Press Ltd. London.
- Harikrishnan, R. And C. Balasundaram. 2005. Modern Trends in *Aeromonas hydrophila* Disease Management with Fish. Review in Fisheries Science. 13: 281-320.
- Kamiso, H.N., Triyanto, & S. Hartati. 1992. Penanggulangan penyakit MAS pada ikan lele (*Clarias sp.*). ARM Project Tahun ke-1. Balitbang Pertanian, Deptan, 38 p.
- Kamiso, H.N., Triyanto, & S. Hartati. 1997. Uji Antigenisitas dan Efikasi Vaksin *Aeromonas hydrophila* Pada Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Perikanan UGM (GMU J. Fish Sd.)* 1(2): 9-16 ISSN :0853-6384
- Kamiso, H.N. 2004. Status Penyakit Ikan dan Pengendaliannya di Indonesia. Prosiding Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang IV, Purwokerto, 18-19 Mei 2004.
- Mulia, D.S. & C. Purbomartono. 2004. Perbandingan Efikasi Vaksin Produk Intra dan Ekstraseluler *Aeromonas hydrophila* Untuk Menanggulangi Penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) pada Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Journal of Fisheries Sciences*. Volume IX Nomor 2, Juli 2007.
- Mulyanto. 1992. Lingkungan Hidup Untuk Ikan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Jakarta.
- Plumb, J.A. 1984. Immunization Of Warm Water Fish Against Five Important Pathogens. *Symposium on fish Vaccination, O.I.E., Paris*. 199-222.
- Soetomo, M. 1998. Teknik Budidaya Ikan Lele. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Souter, B.W. 1984. Immunization With Vaccines. Departement of- Fish and Oceans. Winnipeg, Manitoba. 111-117 p.
- Steel, R.G.D & J.H. Torrie. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistik. (terjemahan *Principle and procedure of Statistics* Oleh B. Sumantri). Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Subowo. 1993. Imunobiologi. Angkasa. Bandung.
- Yu, H. B., P. S. S. Rao, H. C. Lee, S. Vilches, S. Merino, J. M. Tomas, and K. Y. Leung. A Type III secretion system Is required for *Aeromonas hydrophila* AH-1 pathogenesis. *Infection and Immunity*, 72: 1248–1256 (2004).
- Zonneveld, N., E.A. Huismen, & J. Boon. 1991. Prinsip-prinsip Budidaya Ikan. Gramedia Pusta Utama. Jakarta.