

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/btla>

TEKNIK PEMBUATAN VAKSIN KERING BEKU *Aeromonas hydrophila* MENGGUNAKAN CHITOSAN

Edy Farid Wadjudy dan Setiadi

Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan

Jl. Sempur No. 1, Bogor 16129

E-mail: pelnisbpbpat@yahoo.com

ABSTRAK

Vaksinasi merupakan salah satu cara yang efektif untuk pencegahan penyakit infeksius pada budidaya ikan. Ketersediaan produk vaksin ikan dari Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan, Bogor saat ini masih berbasis cair yang memiliki kekurangan dalam stabilitas produk maupun transportasi. Kegiatan ini bertujuan untuk mengetahui teknik pembuatan vaksin kering beku *Aeromonas hydrophila* dengan penambahan chitosan sebagai pengawet yang melapisi dan melindungi antigen vaksin (*coating*). Metode yang dilakukan adalah pembuatan media bakteri, kultur bakteri secara massal, pengenceran berseri, penambahan chitosan dengan berbagai konsentrasi, pembekuan dan pengeringan serta uji kelarutan. Hasil dari kegiatan ini yaitu vaksin *Aeromonas hydrophila* dapat dikeringkan dan larut dengan baik dengan penambahan chitosan sebanyak 0,3 gram (3%).

KATA KUNCI: *freeze dry*; chitosan; *Aeromonas hydrophila*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksius pada ikan air tawar dapat disebabkan oleh bakteri, virus, parasit, dan jamur. Jika ikan sudah terinfeksi maka harus dilakukan pengobatan, tetapi penyakit dapat dicegah melalui vaksinasi. Produk vaksin berbasis cair memiliki kekurangan dalam stabilitas produk maupun transportasi (Sugiani *et al.*, 2016). Antigen yang terkandung dalam vaksin mempunyai masa *expired date* yang tertentu dan mudah rusak jika disimpan pada suhu ruang. Penyiapan material bahan pembuatan vaksin merupakan bagian yang sangat penting dalam proses pembuatan vaksin, termasuk pembuatan vaksin *Aeromonas hydrophila*. Beberapa metode yang biasa dilakukan di laboratorium untuk preparasi sediaan vaksin di antaranya adalah teknik sediaan kering beku dan teknik sediaan cair. Teknik pengeringan beku merupakan salah satu metode teknik pengeringan yang mempunyai keunggulan dalam mempertahankan mutu hasil pengeringan khususnya untuk produk yang sensitif terhadap panas (Novindo, 2017). Prinsip dasar pengeringan beku (*freeze dry*) adalah menghilangkan kandungan air dalam suatu bahan atau produk yang telah beku. Keunggulan tersebut dapat diperoleh jika prosedur dan proses pengeringan beku yang sesuai dengan karakteristik bahan yang dikeringkan sehingga daya rehidrasi yang semakin tinggi maka semakin baik pula daya kelarutannya. Dalam pembuatan vaksin kering

beku *Aeromonas hydrophila* digunakan bahan tambahan berupa chitosan. Menurut Hardjito (2006), chitosan tidak hanya untuk pengawetan makanan, namun dapat juga digunakan sebagai penyerap warna pada industri yang ramah lingkungan serta berfungsi melapisi (*coating*) bahan yang akan diawetkan selain itu chitosan memiliki gugus aktif yang berikatan dengan mikroba. Kegiatan ini bertujuan untuk mengetahui teknik pembuatan sediaan vaksin *Aeromonas hydrophila* dengan metode kering beku dengan berbagai konsentrasi guna pencegahan penyakit bakterial.

BAHAN DAN METODE

Pembuatan vaksin ini dilakukan pada bulan November 2018, bertempat di Laboratorium Kesehatan Ikan, Instalasi Riset Pengendalian Penyakit Ikan (IRP21), Depok, Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan (BRPBATPP), Bogor.

Bahan yang digunakan: bakteri *Aeromonas hydrophila*, media *Tryptic Soy Agar* (TSA), *Tryptic Soy Broth* (TSB), akuades, *Phospat buffer saline* (PBS), alkohol 70%, formalin 0,3%, dan chitosan. Sedangkan alat yang digunakan terdiri atas: *freeze dryer*, *deep freezer*, timbangan analitik, *bunsen*, jarum *ose*, *L glass*, *laminar flow*, *inkubator*, *autoclave*, *vortex*, gelas ukur, tabung reaksi, cawan petri, *erlen meyer*, *aluminium foil*, *magnetic stirrer*, dan *refrigerator*.

Penyiapan Media Tanam *Tryptic Soy Agar* (TSA)

TSA sebanyak 40 g ditimbang lalu dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* yang berisi akuades 1000 mL. Kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah homogen, disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1 Atm selama 20 menit. Lalu didiamkan hingga mencapai $\pm 50^{\circ}\text{C}$, kemudian dituangkan pada cawan petri steril sebanyak 15 mL hingga media dingin lalu disimpan di refrigerator pada suhu 4°C.

Penyiapan Bakteri *A. hydrophila*

Bakteri yang digunakan adalah *A. hydrophila* dan diambil sebanyak 0,2 mL setelah di *thawing* dari media penyimpanan (*TSB* cair + *Gliserol* 30%) di *freezer* -20°C, kemudian dikultur pada media *TSB* dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 28°C. Setelah tumbuh, bakteri ditanam kembali pada media *TSA* sebanyak 5 buah cawan petri dengan cara menggoreskan (*streak*) 0,1 mL menggunakan ose dan diinkubasi kembali selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan penanaman massal dengan disebar ke dalam 30 cawan petri media *TSA* menggunakan ose dan diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu 28°C.

Penanaman dan Pemanenan

Biakan bakteri *A. hydrophila* yang tumbuh pada media *TSA* yang ditanam massal pada 30 petri tersebut di atas, selanjutnya dipanen menggunakan jarum ose besar dan dimasukkan *erlenmeyer* yang berisi 100 mL *phosphate buffer saline*. Bakteri kemudian dilemahkan (inaktivasi) dengan menambahkan *formalin* sebanyak 0,3% sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama ± 2 sampai 4 jam sampai homogen. Kemudian dilakukan pengenceran berseri dengan cara 1 mL vaksin dilarutkan ke dalam 9 mL *phosphate buffer saline* atau 10 mL vaksin ke-90 mL *phosphate buffer saline*. Larutan ini kemudian dimasukkan ke dalam 10 botol plastik masing-masing sebanyak 10 mL dan ditambahkan chitosan dengan berbagai konsentrasi lalu dilakukan penimbangan (Gambar 1).

Pembekuan dan Pengeringan (*Freeze Dry*)

Vaksin yang telah diinaktivasi dengan formalin 0,3% dan homogen dalam kemasan botol plastik kemudian dibekukan dalam *deep freezer* pada suhu -70°C selama 24 jam dan dilanjutkan dengan proses pengeringan menggunakan *freeze dryer* selama 24 jam. Sebelum proses pengeringan, kondisi suhu *freeze dryer* harus mencapai 50 sampai 100°C seperti yang tertera pada indikator alat. Pada kondisi inilah bahan vaksin dimasukkan ke dalam *freeze dry*, menutup *rubber* sampai rapat dan mesin *vacum* dinyalakan. Setelah



(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 1. Pembuatan media TSA (a) Penanaman bakteri *A. hydrophila* secara massal, (b) Pengenceran berseri bakteri, (c) Penambahan chitosan, dan (d) penimbangan.

vaksin menjadi kering beku, proses selesai dan hasil pengeringan tersebut dilakukan penimbangan kembali serta dilanjutkan dengan uji kelarutan (Gambar 2).



(a)



(b)



(c)

Gambar 2. Proses pengeringan vaksin (a dan b); pengujian tingkat kelarutan vaksin kering beku (c).

HASIL DAN BAHASAN

Pembuatan vaksin dengan metode kering beku menghasilkan penurunan berat dari bakteri yang diproduksi. Penurunan ini disebabkan oleh hilangnya kadar air dari bakteri yang telah melalui perlakuan kering beku. Daftar penurunan berat bakteri dari bakteri yang telah dikeringbekukan disajikan pada Lampiran 1. Hasil bakteri yang telah dikeringbekukan dan tingkat kelarutan bakteri dalam air disajikan pada Lampiran 2.

Bakteri *A. hydrophila* dengan penambahan chitosan maupun tanpa penambahan chitosan dapat dikeringbekukan hal ini menunjukkan chitosan merupakan bahan yang memiliki daya rehidrasi yang baik. Menurut Hardjito (2006), chitosan bersifat ramah lingkungan sehingga tidak hanya berfungsi untuk mengawetkan bahan pangan, penyerap warna pada industri tetapi juga dapat untuk melapisi (*coating*) bahan yang diawetkan. Selain itu chitosan memiliki gugus aktif yang dapat berikatan dengan mikroba dan dapat berfungsi sebagai *adjuvant* yang perlu diobservasi lebih lanjut (Lusiastuti *et al.*, 2019).

KESIMPULAN

Vaksin *Aeromonas hydrophila* dapat dikeringbekukan serta larut dengan baik dengan penambahan chitosan sebanyak 0,3 gram (3%).

DAFTAR ACUAN

- Novindo. (2019). Pengeringan beku (*freeze drying*). <http://.novindo.co.id/2017/02/02/ pengeringan-beku-freeze-drying.tanggal akses 12 desember 2019>.
- Hardjito, L. (2006). Chitosan sebagai bahan pengawet pengganti formalin. *Jurnal Pangan*.
- Lusiastuti, A.M., Sugiani, D., Taukhid, Sumiati, T., Andriyanto, S., Nafiqoh, N., Novita, H., Rohmatussolihat, Widyastuti, Y., & Fidriyanto, R. (2019). Optimasi formula penyalut chitosan dan konsentrasi *Aeromonas hydrophila* sebagai sediaan vaksin kering beku. (*Unpublished*).
- Sugiani, D., Taukhid, Purwaningsih, U., & Lusiastuti, A.M. (2016). Vaksin kering beku sel utuh bakteri *Aeromonas hydrophila* untuk pencegahan penyakit motile Aeromonads Septicemia pada ikan lele, Nila, dan Gurami. *Jurnal Riset Akuakultur*, 13 (2), 2018, 159-167.

Lampiran 1. Berat bakteri *A. hydrophila* sebelum dan sesudah proses kering beku

Kode	Berat botol (g)	Sebelum freeze dry			Sesudah freeze dry		
		Vaksin (10 mL)	Chitosan (g)	Berat kotor (g)	Berat kotor (g)	Berat bersih (g)	Rata-rata (g)
A.1	13,76	107	1,8	24,82	15,64	1,88	1,76
A.2	13,54	107	1,8	24,53	15,18	1,64	
B.1	13,47	1011	1,8	24,16	15,31	1,84	1,74
B.2	13,7	1011	1,8	24,13	15,35	1,65	
C.1	13,67	107	0,3	22,57	13,87	0,2	0,25
C.2	13,74	107	0,3	22,09	14,04	0,3	
D.1	13,36	1011	0,3	22,83	13,93	0,57	0,47
D.2	13,45	1011	0,3	22,72	13,82	0,37	
K.3 (+)	13,52	109	0	23,73	14,02	0,5	0,41
K.4 (+)	13,77	109	0	23,73	14,09	0,32	

Lampiran 2. Tingkat Kelarutan bakteri *A. hydrophila* setelah proses kering beku

No.	Uji kelarutan			Keterangan
	Warna	Endapan	Homogenitas	
A.1	Larut	-	v	+++ : Terdapat endapan banyak
A.2	Larut	-	v	++ : Terdapat endapan sedang
B.1	Larut	+++	X	+ : Terdapat endapan sedikit
B.2	Larut	+++	X	- : Tidak ada endapan
C.1	Larut	-	v	v : Tercampur sempurna
C.2	Larut	-	v	X : Tidak homogen
D.1	Larut	-	v	
D.2	Larut	-	v	
K.1	Larut	-	v	
K.2	Larut	-	v	

Keterangan:

Perlakuan A : Penambahan chitosan 1,8 gram, Konsentrasi bakteri 10^7 cfu/mL

Perlakuan B : Penambahan chitosan 1,8 gram, Konsentrasi bakteri 10^{11} cfu/mL

Perlakuan C : Penambahan chitosan 0,3 gram, Konsentrasi bakteri 10^7 cfu/mL

Perlakuan D : Penambahan chitosan 0,3 gram, Konsentrasi bakteri 10^{11} cfu/mL

Perlakuan K : Tanpa penambahan chitosan (0) gram, Konsentrasi bakteri 10^9 cfu/mL