

PENGARUH VAKSINASI MATERNAL ANTI-AEROMONAS *HYDROPHILA* TERHADAP BENIH IKAN LELE DUMBO (*Clarias* sp.) YANG DIHASILKANNYA

Taukhid*) dan Dayat Bastiawan*)

ABSTRAK

Penelitian vaksinasi maternal pada ikan lele telah dilakukan di panti benih Unit Pengembangan Budidaya Air Tawar (UPBAT) Cijengkol dan laboratorium penyakit ikan Balai Penelitian Perikanan Air Tawar. Induk lele sebelum dipijahkan diberi vaksin secara *Intra Peritoneal* (IP) pada saat Tingkat Kematangan Gonad I awal (4 minggu sebelum dipijahkan) dan TKG II awal (2 minggu sebelum dipijahkan) dengan dosis 0,2 ml/kg, 0,4 ml/kg dan 0,8 ml/kg berat badan. Sedangkan kelompok lainnya disuntik dengan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) sebagai kontrol.

Pengamatan adanya transfer antibodi dilakukan terhadap serum darah induk sebelum vaksinasi dan sesudah proses pemijahan, ekstrak telur dan ekstrak benih umur 7; 14; 21 dan 28 hari melalui uji aglutinasi langsung, sedangkan peran antibodi terhadap benih dilakukan melalui ujiantang dan peningkatan persentase kelangsungan hidup setelah pemeliharaan di kolam selama 2 bulan.

Titer antibodi tertinggi dicapai pada benih hasil pemijahan induk yang divaksin saat TKG II awal untuk semua dosis yang diterapkan. Rataan mortalitas benih hasil pemijahan induk vaksinasi maternal saat ujiantang I berkisar antara 2,22-33,33% pada saat umur 21 hari dan berkisar antara 30,00-68,33% pada umur 35 hari; sedangkan benih hasil pemijahan induk tidak divaksin masing-masing sebesar 75,56% dan 93,33%. Kelangsungan hidup kelompok benih hasil pemijahan induk yang divaksin setelah dipelihara selama 2 bulan di kolam berkisar antara 69,01-79,93%, sedangkan kelompok ikan kontrol sebesar 37,64%.

ABSTRACT: *Effect of Maternal Vaccination Anti-Aeromonas hydrophila on Dumbo catfish (Clarias sp.) Broodstocks to Their Fries. By Taukbid and Dayat Bastiawan.*

A study on dumbo catfish maternal vaccination was done at the Freshwater Aquaculture Development Unit (FADU) Cijengkol and fish diseases laboratory of the Research Institute for Freshwater Fisheries. Dumbo catfish broodstocks were vaccinated intraperitoneally at Gonado Somatic Index (GSI) I and II at the doses of 0.2 ml/kg, 0.4 ml/kg and 0.8 ml/kg body weight. Unvaccinated broodstock were used as control.

Antibody titres on broodstock serum, eggs and fry soluble extract were examined by agglutination titre antibody test, and the immun protection to the fry were measured by challenge test and the survival rate after rearing them 2 month in the ponds.

Antibody titre of the fry hatched from vaccinated broodstock at GSI II is higher than vaccinated broodstock at GSI I for all the vaccine doses application. The mortality of fry obtained from vaccinated broodstocks after challenged were 2.2 -33.3% at 21 old days and 30.0-68.3% at 35 old days respectively; meanwhile the mortality of control fry were 75.6% and 93.3% at 21 and 35 old days respectively. The survival rate after reared 2 months in the ponds were 69.0-79.9% of vaccinated broodstock's fry and 37.64% of control fry.

KEYWORDS: *Vaccination, Aeromonas hydrophila, Clarias*

*) Peneliti Balai Penelitian Perikanan Air Tawar, Sukamandi

PENDAHULUAN

Telah lama diketahui bahwa pada hewan vertebrata tingkat tinggi transfer kekebalan maternal cukup berperan dalam meningkatkan daya resistensi anaknya terhadap agen penyakit sebelum sistem immunitasnya berkembang baik (Kawahara *et al.*, 1993). Pada ikan, kekebalan induk betina terhadap suatu jenis penyakit yang diperoleh melalui vaksinasi aktif akan ditransfer kepada keturunannya meskipun dalam kadar yang relatif rendah dan bersifat temporer dengan peluruhan yang cukup cepat (Taukhid dan Bastiawan, 1993). Informasi adanya transfer kekebalan maternal pada ikan masih sangat terbatas dan baru dilaporkan pada beberapa spesies ikan (Bly *et al.*, 1986; Takahashi dan Kawahara, 1987; Mor dan Avtalion, 1988 & 1990; Kawahara *et al.*, 1993; Taukhid dan Bastiawan, 1993 dan Sin *et al.*, 1994). Fenomena tersebut merupakan teknik alternatif dalam upaya mengantisipasi tingginya angka kematian benih ikan pada umur kurang dari satu bulan, yaitu pada saat tubuh ikan belum mampu memproduksi kekebalan spesifik terhadap agen penyakit yang sering menimbulkan kematian di awal kehidupan ikan.

Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan salah satu patogen yang sering menyerang ikan air tawar dan menginfeksi pada semua fase kehidupan ikan. Strain virulen dari jenis bakteri ini diduga merupakan patogen utama penyebab wabah penyakit di Indonesia pada dekade 1980-an yang menyerang beberapa jenis ikan air tawar dan mengakibatkan kerugian ratusan juta rupiah (Eidman *et al.*, 1981; Djajadiredja dan Cholik, 1982 dan Kabata, 1985). Kasus-kasus serupa yang disebabkan oleh jenis bakteri tersebut dalam skala yang bervariasi masih sering terjadi hingga saat ini. Penggunaan antibiotika sudah banyak diterapkan untuk menanggulangi serangan bakteri *A. hydrophila*, hingga pada akhirnya dikembangkan teknik vaksinasi untuk pencegahan dini dari serangan bakteri tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui saat pemberian dan dosis vaksinasi maternal anti-*Aeromonas hydrophila* pada induk betina lele dumbo (*Clarias sp.*) yang memberikan tingkat proteksi paling baik dari perlakuan yang diterapkan terhadap benih yang dihasilkannya.

METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada bulan Juli 1994 hingga Januari 1995 di perkolaman dan panti benih Unit Pengembangan Budidaya Air Tawar (UPBAT) Cijengkol, Subang. Pemeliharaan induk pra-vaksinasi dilakukan dalam kolam beton 3 x 6 m² yang dipisahkan antara kelompok induk jantan dan betina. Setelah diberi perlakuan, pemisahan masing-masing kelompok induk dilakukan dalam bak beton 1,5 x 2,25 m². Proses pemijahan serentak dilakukan di panti

benih, demikian pula uji tantang terhadap benih-benih yang dihasilkan. Pengamatan titer antibodi dilakukan di laboratorium penyakit ikan, Balai Penelitian Perikanan Air Tawar.

Ikan Uji

Ikan yang digunakan adalah induk lele dumbo (*Clarias sp.*) sebanyak 40 pasang dengan bobot tubuh antara 530-1.820 g/ekor atau bobot rata-rata 895 g/ekor. Selama masa adaptasi, induk ikan diberi pakan buatan berupa pelet komersial (kadar protein 30%) sebanyak 3-5% bobot tubuh per hari yang diberikan pada pagi dan sore hari.

Benih hasil induk uji diberi pakan campuran *Artemia salina* dan *Daphnia* secara *ad libitum* hingga berumur 2 minggu, dan selanjutnya diberi pakan remahan pelet sebanyak 3-10% bobot tubuh per hari hingga akhir percobaan.

Vaksinasi Maternal

Pada percobaan ini digunakan dua kelompok induk yang dibedakan berdasarkan tingkat kematangan gonad (TKG), yaitu: (1) TKG I awal dan (2) TKG II awal. Penentuan kedua tingkat kematangan gonad tersebut dilakukan dengan cara sebagai berikut. Setelah menjalani proses adaptasi selama 2 minggu, induk betina diseragamkan perkembangan gonadnya dengan cara tidak diberi pakan selama tujuh hari; sehingga diharapkan telur-telur yang sedang berkembang dalam gonad diserap kembali sebagai sumber energi. Pada hari ke-7 dilakukan pemeriksaan terhadap tiga ekor sampel induk yang dibedah dan gonadnya diamati secara makroskopis. Hal ini dilakukan untuk meyakinkan asumsi perkembangan gonad yang hendak diterapkan dalam penelitian. Pada hari ke-8 hingga ke-11 induk betina mulai diberi pakan seperti biasa agar kondisi tubuh normal kembali, pada hari ke-12 diasumsikan sebagai permulaan perkembangan gonad atau TKG I awal dan dua minggu berikutnya diasumsikan sebagai TKG II awal.

Bakteri *Aeromonas hydrophila* isolat No.26 koleksi Balai Penelitian Perikanan Air Tawar yang disiapkan secara *heat killed* dengan kepadatan 1×10^{11} cfu/ml digunakan sebagai vaksin. Pemberian vaksin kepada kedua kelompok induk yang berbeda tingkat kematangan gonadnya dilakukan melalui penyuntikan *Intra Peritoneal* (IP) dengan empat kelompok dosis, yaitu: (1) 0,2 ml/kg; (2) 0,4 ml/kg; (3) 0,8 ml/kg dan (4) kelompok ikan kontrol yang disuntik dengan *Phosphate Buffer Saline* (PBS).

Pemijahan Ikan Uji

Proses pemijahan serentak dari keseluruhan induk uji dilakukan setelah dua minggu dari saat pemberian vaksin kepada kelompok induk TKG II awal atau

4 (empat) minggu dari saat pemberian vaksin kepada kelompok induk TKG I awal. Untuk menyeragamkan terjadinya ovulasi, semua induk dirangsang dengan ekstrak hipofisa dari ikan lele dumbo dengan dosis 1:1,5 bagi induk betina (1 kg resipien diberi ekstrak hipofisa yang berasal dari 1,5 kg donor) dan 1:1 bagi induk jantan.

Pada percobaan ini dilakukan dua tahap pemijahan. Pada tahap pertama, proses pemijahan induk uji dilakukan terhadap semua kelompok perlakuan; yaitu dua kelompok Tingkat Kematangan Gonad (TKG) atau *Gonad Somatic Index (GSI)* dan empat variasi dosis vaksin. Namun benih ikan dari hasil pemijahan tahap pertama ini hanya digunakan untuk keperluan pengamatan titer antibodi dan ujiantang I. Sedangkan pada tahap kedua, proses pemijahan hanya dilakukan terhadap kelompok perlakuan yang memberikan hasil relatif lebih baik berdasarkan hasil yang telah dicapai dari hasil pemijahan tahap pertama. Benih ikan dari hasil pemijahan tahap kedua digunakan untuk keperluan ujiantang II serta dipelihara dalam bak beton selama dua bulan sebagai aplikasi dari peran vaksinasi maternal.

Titer Antibodi

Pengamatan titer antibodi dilakukan terhadap serum darah induk sebelum diberi vaksin dan setelah proses pemijahan, ekstrak telur serta ikan uji pada saat berumur 7; 14; 21 dan 28 hari.

Serum darah induk diambil secara *Dorsal Aorta Puncture (DAP)*, darah ditampung dalam *ependorf tube*, kemudian diproses hingga didapat serum darah yang siap digunakan dalam pengamatan titer antibodi. Sedangkan ekstrak telur dan benih ikan diperoleh dengan cara mencuci telur maupun benih dengan akuades steril lalu dikeringkan di atas kertas saring Whatman. Telur dan benih berumur 7 hari digerus dengan penggerus ekstrak hipofisa, sedangkan untuk benih umur 14 hingga 28 hari ekstraksi dilakukan dengan menggunakan *plastic stomacher*.

Hasil ekstraksi berupa koloid dicampur dengan PBS Tween (v/v) yaitu larutan 0,13 ml tween dalam 250 ml PBS: 0,15 M; pH 7,2 selanjutnya disaring dengan *filter millipore* 0,45 mikron meter kemudian hasil saringan dipusing pada 3500 x g selama 20 menit. Setelah itu didiamkan selama 10-15 menit hingga terlihat tiga lapisan yang berbeda. Bagian atas merupakan lapisan lemak, kemudian cairan di atas endapan yang merupakan *Soluble Extract (SE)* diambil sebanyak 200-300 mikro liter. Cairan tersebut diduga merupakan campuran antara serum darah dengan cairan tubuh ikan dan diasumsikan sebagai serum darah yang nantinya digunakan dalam pengamatan titer antibodi. Sedangkan bagian paling bawah merupakan endapan jaringan tubuh ikan.

Pengukuran titer antibodi dilakukan dengan cara modifikasi menurut metode Anderson (1974). Pencampuran antara serum darah dengan antigen

dilakukan dalam *steril 96 well titertek plates*, kemudian ditutup dengan aluminium foil dan disimpan dalam lemari pendingin selama 15-60 menit sebelum diperiksa. Sampel diperiksa dengan teknik tetes gantung dan diamati di bawah mikroskop *compound* pada pembesaran 400 kali.

Pemeliharaan

Ikan umur dua minggu dilakukan pemeliharaan dalam bak beton 1,5 x 2,25 m² dengan kepadatan 150 ekor/m² dan lama pemeliharaan selama 2 bulan. Pemeliharaan ini hanya dilakukan terhadap kelompok ikan uji yang memperlihatkan hasil baik, dan penentuan ini dilakukan berdasarkan hasil pengukuran titer antibodi dan ujiantang I. Pengamatan terhadap kondisi kesehatan ikan, gejala klinis pada ikan yang sakit serta tingkat kelangsungan hidup dilakukan setiap bulan dengan teknik pengambilan sampel total.

Uji Tantang

Untuk mengetahui peran kekebalan maternal pada masing-masing kelompok, dilakukan ujiantang terhadap patogen target sesuai dengan jenis yang diberikan pada induknya. Pengujian ini dilakukan dua kali, yaitu ujiantang I pada umur tiga minggu dan ujiantang II pada umur enam minggu. Pengujian I dilakukan terhadap semua kelompok ikan uji, sedangkan pengujian II hanya dilakukan terhadap kelompok ikan yang dipelihara dalam bak beton.

Ujiantang I dilakukan terhadap 100 ekor benih ikan dari masing-masing ulangan, dengan cara merendam ikan uji dalam media yang mengandung bakteri aktif dengan konsentrasi $1,0 \times 10^7$ cfu/ml selama 30 menit. Sebelum direndam dalam media tersebut, ikan uji terlebih dulu direndam dalam larutan *hypersaline* (5.000 ppm) selama 5 menit. Pemeliharaan selanjutnya dilakukan dalam akuarium dengan kepadatan 5 ekor/liter. Pengamatan terhadap gejala klinis secara makroskopis serta kematian dilakukan selama tujuh hari dari saat perendaman. Sedangkan ujiantang II dilakukan terhadap 25 ekor benih ikan dari masing-masing ulangan, dengan cara memasukkan bakteri aktif pada konsentrasi $1,0 \times 10^3$ cfu/ml sebanyak 0,05 ml/ekor ke dalam tubuh ikan uji melalui penyuntikan intra muskular (IM). Pemeliharaan dan pengamatan selanjutnya dilakukan seperti pada ujiantang I.

Analisis data

Rancangan percobaan yang digunakan pada tahap pemijahan I adalah Rancangan Faktorial dengan faktor utama Tingkat Kematangan Gonad (2 perlakuan) dan dosis vaksin (5 perlakuan), namun karena terjadi kematian massal pada beberapa perlakuan maka data hasil tahap pemijahan tersebut digunakan sebagai percobaan pendahuluan. Sedangkan rancangan percobaan pada tahap pemijahan II adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan