

Full Paper

**PERBANDINGAN EFIKASI VAKSIN PRODUK INTRA- DAN EKSTRASELULER
Aeromonas hydrophila UNTUK MENANGGULANGI PENYAKIT
MOTILE AEROMONAS SEPTICEMIA (MAS)
PADALELE DUMBO (*Clarias* sp.)**

**EFFICACY COMPARISON OF INTRA- AND EXTRACELLULAR PRODUCTS
VACCINES OF *Aeromonas hydrophila* TO CONTROL
MOTILE AEROMONAS SEPTICEMIA (MAS)
IN CATFISH (*Clarias* sp.)**

Dini Siswani Mulia^{*)} dan Cahyono Purbomartono^{*)}

Abstact

The aims of this research were to evaluate the efficacy of intra- and extracellular products vaccines of *Aeromonas hydrophila* to control Motile Aeromonas Septicemia (MAS) in catfish (*Clarias* sp.). Catfish with 10-13 cm of total length were used for the experiment with three treatments in five replicates. The treatments were vaccinations with (1) A: intracellular product of *A. hydrophila*; (2) B: extracellular product of *A. hydrophila*; (3) without vaccination (control). Vaccination was conducted by intramuscular injection of 5 µg protein/fish (each fish was injected with 0.1 ml of vaccine). Booster was conducted one week after vaccination. The challenge test was conducted two weeks after booster. The results showed that the survival rate, Relative Percent Survival (RPS), and antibody titer of A treatment was significantly different ($P < 0.05$) with B treatment and control. The survival rate and RPS of catfish vaccinated with intracellular product of *A. hydrophila* (A treatment) reached 85.33 and 82.26%, respectively. The highest antibody titer was 1843.2 which was obtained by the A treatment. The results suggested that intracellular product vaccine of *A. hydrophila* was more effective than extracellular product vaccine.

Key words: *Aeromonas hydrophila*, catfish, extracellular product vaccine, intracellular product vaccine.

Pengantar

Penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* sampai saat ini merupakan salah satu kendala dalam budidaya ikan air tawar, tidak terkecuali lele dumbo. Serangan bakteri ini dapat menyebabkan kematian benih ikan lele 80-100% dalam waktu sekitar satu minggu (Triyanto *et al.*, 1997). Penanggulangan penyakit MAS dengan obat-obatan dan antibiotika efektif apabila penggunaannya tepat dan tidak terlalu

lama. Pemakaian yang terus-menerus akan menimbulkan dampak negatif, baik pada ikan, lingkungan, maupun konsumen.

Vaksinasi merupakan cara yang efektif dan efisien untuk menanggulangi penyakit MAS. Tingkat perlindungan yang ditimbulkan oleh vaksinasi sangat tergantung pada jenis dan kualitas vaksin, cara vaksinasi, kondisi ikan, dan lingkungan hidupnya (kualitas air) (Kamiso *et al.*, 1998). Penelitian penggunaan bermacam-macam antigen *A. hydrophila*

^{*)} Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Jl. Raya Dukuwaluh PO BOX 202, Purwokerto

^{*)} Penulis untuk korespondensi : E-mail : dinimulia@yahoo.com

sebagai vaksin sudah banyak dilakukan dengan hasil yang bervariasi. Vaksin produk intra dan ekstraseluler *A. hydrophila* merupakan dua jenis bagian dari sel yang dapat digunakan sebagai antigen. Vaksin produk intraseluler *A. hydrophila*, di dalamnya terdapat berbagai jenis protein yang bersifat imunogenik. Antigen ini dibuat dari cairan intraseluler bakteri dan mampu mengaktivasi limfosit sehingga mampu memproduksi antibodi. Menurut Subowo (1993), kebanyakan imunogen yang kuat dan mudah menimbulkan respons imun yang nyata adalah berupa protein. Murtiningsih (2003) menggunakan vaksin produk intraseluler *A. hydrophila* strain Cangkring dengan dosis 2,5-10 mg/ekor, sintasan lele dumbo mencapai 66,7-100%. Olga (2003) menggunakan vaksin protein produk intraseluler *A. hydrophila* dengan berat molekul berkisar antara 40-100 kDa, sintasan lele dumbo mencapai 42,22-75,56%.

Produk ekstraseluler (ECPs) termasuk toksin, protein, dan enzim (Stevenson, 1988) dapat berfungsi sebagai toksin yang menyebabkan penyakit (Allan & Stevenson, 1981) dan dapat pula sebagai antigen yang menimbulkan rangsangan pada ikan untuk memproduksi antibodi (Leung, 1987). Nugroho *et al.* (1990) menggunakan vaksin produk ekstraseluler *A. hydrophila* pada ikan karper, sintasan mencapai 54,76%, sedangkan vaksin *whole cell* mencapai 42,86% dan vaksin *complete* (produk ekstraseluler dan *whole cell*) mencapai 47,62%.

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efikasi vaksin produk intra- dan ekstraseluler *A. hydrophila* untuk menanggulangi MAS pada lele dumbo.

Bahan dan Metode

Reinfeksi dan reisolasi *A. hydrophila*
Kultur bakteri *A. hydrophila* strain Moyudan

pada media TSB (*Tryptone Soya Broth*) (Oxoid) disuntikkan secara intramuskular dengan dosis 0,1 ml (10^{11} CFU/ml) pada 5 ekor ikan lele dumbo berukuran 10-13 cm untuk mengembalikan tingkat virulensi. Bakteri diisolasi kembali dari lele dumbo yang menunjukkan gejala penyakit MAS pada media GSP (*Glutamat Starch Phenile*) agar (Merck). Reinfeksi dan reisolasi dilakukan sebanyak 3 kali.

s

Penentuan *Lethal Dose*₅₀ (*LD*₅₀)

Lele dumbo diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila* secara suntikan intramuskular dengan dosis 0,1 ml suspensi bakteri dengan kepadatan 0 (kontrol), $2,18 \times 10^5$; $2,18 \times 10^6$; $2,18 \times 10^7$; $2,18 \times 10^8$; $2,18 \times 10^9$; dan $2,18 \times 10^{10}$ CFU/ml. Konsentrasi bakteri dihitung dengan metode *total plate count* (Jutono *et al.*, 1980). Ikan yang telah disuntik dipelihara dalam ember berisi 10 l air dengan kepadatan 8 ekor/ember. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 7 hari untuk mengetahui kematian ikan pada masing-masing ember. Perhitungan *LD*₅₀ dilakukan berdasarkan metode Reed-Muench (Anderson, 1974).

Pembuatan antigen produk intra- dan ekstraseluler *A. hydrophila*

Kultur bakteri *A. hydrophila* pada media TSA (*Tryptone Soya Agar*) (Merck) dipanen dengan sentrifuse (Beckman, Model J-6B) pada kecepatan 3.000 rpm selama 20 menit dan dicuci 3 kali dengan PBS (*Phosphate Buffer Saline*) 0,01 M pH 7,4. Supernatan ditampung dalam tabung konikal sebagai vaksin produk ekstraseluler. Pelet bakteri disuspensikan dalam $\pm 1-2$ ml PBS 0,01 M pH 7,4, kemudian selnya dipecah dengan sonikator (B. Braun 2000 U) dalam keadaan dingin selama 6x30 detik pada 159 Hz (Bollag *et al.*, 1969). *Debris* dan produk intraseluler dipisahkan dengan sentrifuse pada kecepatan 12.000 rpm pada suhu 4°C selama 15 menit. Produk intraseluler disuspensikan dalam 5-7 ml PBS 0,01 M pH 7,4. Selanjutnya, konsentrasi protein diukur dengan metode *Bio-rad protein assay*

(Dunn, 1989) menggunakan spektrofotometer (Beckman, Model DU^(R)-65) pada panjang gelombang 595 nm dengan standard *bovine serum albumin* (BSA).

Vaksinasi lele dumbo dengan produk intra- dan ekstraseluler *A. hydrophila*
 Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 5 ulangan, yaitu A: pemberian vaksin produk intraseluler *A. hydrophila*; B: pemberian vaksin produk ekstraseluler *A. hydrophila*; dan kontrol. Unit percobaan berupa lele dumbo sebanyak 15 ekor dalam ember pemeliharaan yang diisi 20 l air. Lele dumbo yang digunakan berukuran panjang 10-13 cm (11-15 g). Sebelum divaksin, lele dumbo diaklimatisasi selama 15 hari. Vaksinasi dilakukan dengan suntik intramuskular sebanyak 0,1 ml vaksin dengan dosis 5 µg protein/ekor. Seminggu setelah vaksinasi dilakukan *booster* dengan cara dan dosis yang sama. Dua minggu setelah *booster* dilakukan uji tantang dengan menyuntik ikan secara intramuskular sebanyak 0,1 ml dengan kepadatan suspensi bakteri sesuai dengan hasil perhitungan LD₅₀.

Pengukuran titer antibodi

Pengamatan titer antibodi dilakukan dengan metode mikrotiter (Volk & Wheeler, 1988). Titer antibodi diamati sebanyak 5 kali, yaitu sebelum ikan divaksin (minggu ke-0), pada saat akan dibooster (minggu ke-1), seminggu setelah *booster* (minggu ke-2), dua minggu setelah *booster* (pada saat akan uji tantang/minggu ke-3), dan pada akhir penelitian (minggu ke-5).

Pengukuran kualitas air

Pengamatan kualitas air dilakukan setiap minggu. Parameter kualitas air yang diamati meliputi suhu air, pH dengan metode potensiometri, kadar oksigen terlarut (DO) dan kandungan karbon dioksida bebas (CO₂ bebas) dengan metode Winkler.

Analisis data

Data yang dikumpulkan adalah kematian

ikan, titer antibodi, dan kualitas air. Data kematian ikan digunakan untuk menghitung sintasan, RPS (*relative percent survival*), dan MTD (*mean time to death*) diamati setelah uji tantang. Data dianalisis dengan analisis varian dan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) dengan tingkat kepercayaan 95%. Data kualitas air dianalisis secara deskriptif.

RPS dihitung sebagai berikut:

$$RPS = (1 - \frac{\% \text{ kematian ikan yg divaksin}}{\% \text{ kematian ikan yg tdk divaksin}}) \times 100\%$$

MTD dihitung sebagai berikut :

$$MTD = \frac{\sum ai.bi}{\sum bi} \times 100\%$$

Keterangan:

ai : waktu kematian (hari)

bi : jumlah kematian ikan setiap waktu pengamatan

Hasil dan Pembahasan

***Lethal Dose*₅₀ (LD₅₀) *A. hydrophila* terhadap lele dumbo**

Patogenisitas *A. hydrophila* pada lele dumbo ditunjukkan dengan kepadatan bakteri yang menyebabkan kematian ikan sebesar 50%, yang disebut dengan *Lethal Dose*₅₀ (LD₅₀). LD₅₀ selanjutnya digunakan sebagai dosis infeksi bakteri *A. hydrophila* pada saat uji tantang (*Challenge test*). LD₅₀ terletak antara 2,18 x 10⁷ cfu/ml dan 2,18 x 10⁶ cfu/ml (Tabel 1). Berdasarkan metode Reed-Muench (Anderson, 1974) LD₅₀ yang diperoleh adalah 5,47 x 10⁶ cfu/ml.

Tabel 1. Mortalitas lele dumbo (5) yang diinfeksi *A. hydrophila* pada saat uji penentuan LD₅₀

Jumlah bakteri (CFU)	Tingkat kematian (%)
2,18 x 10 ¹⁰	100,0
2,18 x 10 ⁹	100,0
2,18 x 10 ⁸	100,0
2,18 x 10 ⁷	87,5
2,18 x 10 ⁶	25,0
2,18 x 10 ⁵	12,5
Kontrol	0

Nilai LD₅₀ ini menunjukkan bahwa isolat *A. hydrophila* strain Moyudan yang digunakan dalam penelitian ini cukup ganas. Saroni *et al.* (1993) menyatakan bahwa LD₅₀ *A. hydrophila* berkisar antara 10⁴-10⁶ sel/ml. Stevenson (1988) mengelompokkan isolat *A. hydrophila* dengan LD₅₀ sebesar 10⁴-10⁵ CFU/ml dinyatakan virulen, sedangkan isolat *A. hydrophila* dengan LD₅₀ sebesar 10⁷ CFU/ml atau lebih dinyatakan nonvirulen. Keganasan bakteri dalam penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian Triyanto (1990) dan Supriyadi & Shariff (1996). Triyanto (1990) menyatakan bahwa nilai LD₅₀ *A. hydrophila* isolat Cisaat adalah 3,98 x 10⁵ sel/ml, isolat Cimanggis adalah 5,47 x 10⁵ sel/ml, dan isolat Yogyakarta adalah 8,99 x 10⁵ sel/ml. Supriyadi & Shariff (1996) menyatakan bahwa nilai LD₅₀ *A. hydrophila* yang diinfeksi secara intraperitoneal adalah 6,7-9,6 x 10⁴ CFU/ekor pada lele dumbo dan 7,3 x 10⁵ - 2,0 x 10⁷ CFU/ekor pada lele lokal. Perbedaan tingkat keganasan antara *A. hydrophila* yang digunakan dalam penelitian ini dengan hasil penelitian lain diduga karena adanya perbedaan strain.

Gejala penyakit eksternal akibat serangan *A. hydrophila* adalah perubahan warna tubuh yang semula hitam menjadi bercak-bercak putih dan pucat. Mukus di seluruh tubuh berkurang, perut mengembung bengkak dan berwarna putih kekuningan, sebagian ikan yang lain perutnya berwarna merah pucat. Bercak merah pada sisi perut, dada, ekor, sekitar mulut dan pangkal sungut. Sungut memutih dan ujungnya patah, sebagian

lepas. Sirip dada memutih dan terdapat bercak merah. Sirip punggung geripis, gerakan tubuh melemah, berenang kurang aktif, memisahkan diri dari ikan yang lain, mengapung di permukaan air atau berenang di dasar. Gejala internal yang timbul cairan kuning di dalam rongga perut karena terganggunya fungsi ginjal, ginjal berwarna merah pucat dan lembek, hati merah kehitaman, jantung, insang, usus pucat, lambung mengembung berisi air. Otot menjadi lembek dan mudah rusak.

Sintasan, RPS, dan MTD setelah uji tantang

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan jenis vaksin (produk intra- dan ekstraseluler *A. hydrophila*) dapat meningkatkan sintasan lele dumbo (P<0,05). Perlakuan A (vaksin produk intraseluler *A. hydrophila*) menghasilkan sintasan yang lebih tinggi, yaitu 85,33% dibandingkan perlakuan B (vaksin produk ekstraseluler *A. hydrophila*) yaitu 58,67%, sedangkan kontrol menghasilkan sintasan terendah sebesar 17,33% (Tabel 2). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa efektivitas vaksin dalam menanggulangi penyakit MAS pada lele dumbo dipengaruhi oleh jenis vaksin atau sel bakteri yang digunakan sebagai vaksin.

Sintasan yang dihasilkan oleh perlakuan A (produk intraseluler *A. hydrophila*) lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian Murtiningsih (2003) dan Olga (2003). Hasil penelitian Murtiningsih (2003) yang menggunakan vaksin produk intraseluler *A. hydrophila* strain Cangkring pada lele dumbo menunjukkan bahwa dengan dosis 5 µg protein/ekor sintasan mencapai 83,3%,

Tabel 2. Sintasan, RPS, dan MTD pada masing-masing perlakuan

Perlakuan	Parameter		
	Sintasan (%)	RPS (%)	MTD (hari)
A (produk intraseluler)	85,33 ± 5,58 ^a	82,26 ± 6,75 ^a	1,57 ± 0,44 ^a
B (produk ekstraseluler)	58,67 ± 8,69 ^b	50,04 ± 10,51 ^b	1,67 ± 0,47 ^a
Kontrol	17,33 ± 7,60 ^c	-	1,09 ± 0,08 ^a

Keterangan : Rata-rata yang diikuti huruf superscript yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (P>0,05)

sedangkan hasil penelitian Olga (2003) menggunakan vaksin produk intraseluler *A. hydrophila* dan dosis yang sama, sintasan mencapai 75,56%. Sintasan yang dihasilkan oleh perlakuan B (produk ekstraseluler *A. hydrophila*) sebesar 58,67%. Hasil penelitian ini sedikit lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Nugroho *et al.* (1990) terhadap ikan karper yang diberi vaksin supernatan dengan nilai sintasan sebesar 54,76%.

Tingginya sintasan perlakuan A secara relatif memberikan perlindungan pada lele dumbo yang lebih baik, hal ini ditunjukkan dengan RPS sebesar 82,26% yang jauh lebih tinggi dibandingkan perlakuan B sebesar 50,04% dan antara keduanya berbeda nyata ($P < 0,05$). RPS perlakuan A lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian Olga (2003), yaitu 75% dan Murtiningsih (2003), yaitu 66,70%. Namun, ditinjau dari RPS yang baik yaitu di atas 50% (Kamiso & Triyanto, 1996), maka vaksin produk intraseluler dan ekstraseluler *A. hydrophila* sudah mampu memberikan perlindungan yang baik terhadap serangan *A. hydrophila* pada lele dumbo. RPS yang dihasilkan lele dumbo menunjukkan bahwa dengan pemberian vaksin produk intra- dan ekstraseluler *A. hydrophila* respons imun dapat meningkat signifikan yang ditunjukkan dengan pembentukan antibodi sehingga ikan lebih tahan terhadap serangan *A. hydrophila* pada saat ujiantang.

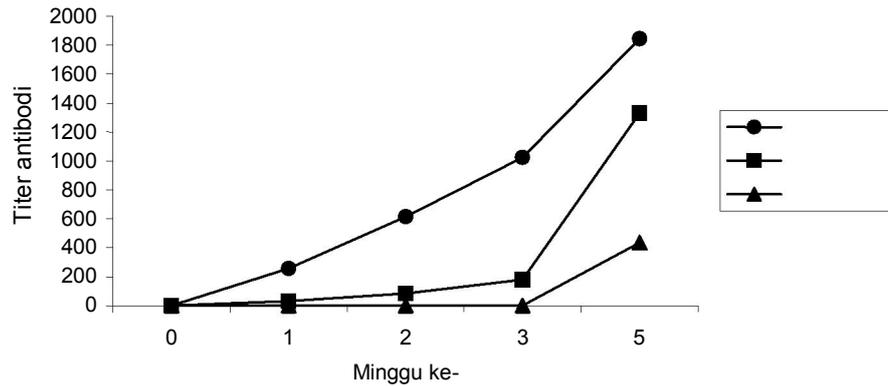
MTD yang dihasilkan perlakuan A, B, dan kontrol masing-masing adalah 1,57; 1,67 dan 1,09 hari. MTD tersebut tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) setelah dianalisis varian. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Kamiso *et al.* (1992) menjelaskan bahwa vaksinasi hanya melindungi ikan dari serangan bakteri dan jika ikan yang divaksin dapat terserang maka perlakuan vaksinasi tidak berpengaruh nyata terhadap perkembangan penyakit. Akibat-

nya, rerata waktu kematian ikan yang divaksin tidak mempunyai perbedaan dengan ikan yang tidak divaksin.

Titer antibodi

Satu minggu setelah vaksinasi (minggu ke-1) perlakuan A mengalami peningkatan titer antibodi yang cukup signifikan, yaitu 256, dan jauh lebih tinggi dibandingkan perlakuan B yang hanya meningkat menjadi 32 (Gambar 1). Satu minggu setelah *booster* (minggu ke-2), titer antibodi pada perlakuan A mengalami peningkatan yang sangat tinggi, yaitu 614,4 dibandingkan dengan perlakuan B, yaitu 83,2. Dua minggu setelah *booster* (sebelum uji tantang/minggu ke-3), titer antibodi pada perlakuan A meningkat menjadi 1024, perlakuan B menjadi 179,2, sedangkan kontrol masih tetap. Masing-masing perlakuan pada minggu ke-1, 2, dan 3 berbeda nyata ($P < 0,05$). Dua minggu setelah uji tantang (minggu ke-5) titer antibodi meningkat tajam, baik pada perlakuan yang divaksin maupun kontrol. Titer antibodi perlakuan A, B, dan kontrol masing-masing adalah 1843,2; 1331,2; dan 435,2. Antar perlakuan pada minggu ini tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Produksi antibodi meningkat tajam pada lele dumbo yang divaksin dengan vaksin produk intraseluler *A. hydrophila* dibandingkan dengan lele dumbo yang divaksin dengan vaksin produk ekstraseluler *A. hydrophila*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan vaksinasi dapat meningkatkan respons imun berupa titer antibodi ($P < 0,05$). Pada akhir penelitian, titer antibodi perlakuan yang divaksin maupun kontrol mengalami peningkatan.

Keberhasilan vaksinasi tergantung pada jumlah dan mutu antigen, cara vaksinasi, umur ikan, kondisi lingkungan, kemampuan masing-masing individu ikan, jenis antigen, dan cara vaksinasi (Anderson, 1974; Dorson, 1984; Ellis, 1988; Kamiso *et al.*, 1998). Dalam penelitian ini tampak bahwa vaksinasi menggunakan



Gambar 1. Titer antibodi pada masing-masing perlakuan. Minggu ke-0, awal penelitian (sebelum divaksin); minggu ke-1, seminggu setelah divaksin (sebelum *booster*); minggu ke-2, seminggu setelah *booster*; minggu ke-3, 2 minggu setelah *booster* (sebelum ujiantang); minggu ke-5, panen (2 minggu setelah ujiantang).

vaksin produk intraseluler *A. hydrophila* dapat merangsang respons imun humoral yang lebih tinggi dengan pembentukan titer antibodi. Hal ini disebabkan dalam produk intraseluler *A. hydrophila* terdapat berbagai jenis protein dan polisakarida yang bersifat imunogenik. Almendras (2001) menyatakan bahwa protein merupakan makromolekul yang imunogen. Pada bagian tertentu dari molekul ini dapat menentukan spesifitas reaksi antigen-antibodi dan sebagai penentu timbulnya respons imun. Menurut Subowo (1993), bagian tertentu dari molekul ini biasanya dinamakan epitop. Jumlah epitop dari molekul antigen

tergantung pada ukuran dan kerumitan struktur molekulnya.

Gejala dan perkembangan penyakit MAS (Motile Aeromonas Septicemia)

Gejala eksternal akibat infeksi *A. hydrophila* tampak pada hari ke-1 sampai ke-3 setelah ujiantang. Pada hari ke-4, ikan sudah menunjukkan tanda-tanda penyembuhan. Perkembangan gejala eksternal lele dumbo yang diinfeksi *A. hydrophila* dapat dilihat pada Tabel 3.

Gejala eksternal dan internal pada ikan yang mengalami kematian selama ujiantang disajikan pada Tabel 4.

Tabel 3. Perkembangan gejala penyakit eksternal pada ikan yang diinfeksi *A. hydrophila*

Hari ke-n	Gejala eksternal
0	Berenang tidak aktif, selalu diam, kadang mengapung di permukaan air, terlihat lemas, dan respon berkurang.
1	Sirip dada, sirip punggung, sirip anal berwarna keputihan dan mengalami geripis. Sungut berwarna keputihan. Respon ikan semakin rendah.
2	Sirip semakin banyak yang geripis dan kadang diikuti dengan pendarahan pada sirip dada, sirip punggung, sirip anal dan sungut. Respon ikan sudah cukup baik.
3	Sirip dada, sirip punggung dan sirip anal yang berwarna putih dan geripis sudah hilang demikian juga dengan sungut sudah normal. Pendarahan pada daerah sirip masih ada. Respon ikan sudah baik.
4	Geripis keputihan sudah menghilang. Ikan normal dan respon bagus, geripis keputihan sudah menghilang.

Tabel 4. Gejala eksternal dan internal ikan uji yang mati akibat infeksi *A. hydrophila*

Bagian tubuh	Gejala
Eksternal	Seluruh tubuh berwarna keputih-putihan. Mukus di seluruh tubuh berkurang, kulit kasar. Sungut, sirip dada, sirip punggung, sirip anal, sirip ekor berwarna keputihan dan mengalami geripis. Terdapat luka di daerah bekas suntikan, bahkan ada yang bolong karena dagingnya terkelupas. Bagian perut mengembung bengkak, dan berwarna putih kekuningan, bahkan ada yang berwarna merah dan biru. Respons ikan semakin rendah. Berenang lambat dan cenderung di dasar atau di permukaan air.
Internal	Rongga perut penuh dengan cairan kuning, usus berwarna kuning, ginjal berwarna merah pucat dan lembek, hati merah kehitaman, jantung, insang, usus pucat, lambung mengembung berisi air. Otot menjadi lembek dan mudah rusak

Kualitas air

Kualitas air selama penelitian masih berada pada batas toleransi untuk kehidupan lele dumbo. Suhu berpengaruh pada pembentukan antibodi (Anderson, 1974). Pada suhu yang optimal, pembentukan antibodi akan berjalan dengan baik demikian juga sebaliknya. Suhu air saat penelitian berkisar antara 25-31°C dan merupakan suhu yang optimum bagi kehidupan lele dumbo. Menurut Kamiso & Triyanto (1992), lele dumbo sangat toleran terhadap suhu air yang cukup tinggi, yaitu pada kisaran 20-35°C, pH berkisar antara 6,8-7,4, oksigen terlarut berkisar antara 4,5-6,8 mg/l, dan CO₂ bebas berkisar antara 5,3-11,8 mg/l. Boyd (1990) menyatakan bahwa kisaran suhu 25-32°C, pH 6,5-9 dan oksigen terlarut minimal 2 ppm dianggap masih normal dan baik untuk kehidupan ikan air tawar. Dengan demikian, kualitas air bukan merupakan faktor penyebab kematian lele dumbo dalam penelitian ini. Kematian ikan kontrol pada saat uji tangant disebabkan karena infeksi *A. hydrophila*.

Kesimpulan

Efikasi vaksin produk intraseluler *A. hydrophila* lebih tinggi daripada vaksin produk ekstraseluler *A. hydrophila*. Efikasi vaksin ini dapat dilihat dengan tingginya sintasan, RPS dan titer antibodi yang dihasilkan oleh vaksin produk intraseluler *A. hydrophila*.

Daftar Pustaka

- Allan, B.J. and R.M.W. Stevenson. 1981. Extracellular virulence factors of *Aeromonas hydrophila* in fish infection. *Can. J. Microbiol.* 27:1114-1122.
- Almendras, J.M.E. 2001. Immunity and biological methods of disease prevention and control. *In: Health management in aquaculture.* G.D. Lio-Po, C.R. Lavilla and E.R. Cruz-Lacierda (Eds.). Aquaculture Departement Southeast Asian Fisheries Development Center, Philippines. 111-136 p.
- Anderson, D.P. 1974. Fish immunology. *In: Diseases of fishes, Vol.4.* S.F.Snieszko and H.R. Axelrod. (Eds.). T.F.H. Publications. Ltd. 239 p.
- Bollag, D.M., M.D. Rozycki, and S.J. Edelstein. 1969. Protein methods. Second Edition. John Wiley and Sons. Inc. Publication. New York. 415 p.
- Boyd, C.E. 1990. Water quality in ponds for aquaculture. Birmingham Publishing Co. Alabama. 482 p.
- Dorson, M. 1984. Applied immunology of fish. Symposium on fish vaccination. O.I.E. Fish Diseases Commission. Paris: 39-74.

- Dunn, M.J. 1989. Determination of total protein concentration. *In: Protein purification methods a practical approach*. E.L.V Harris and S. Angal (Eds.). IRL Press at Oxford University Press. 10-16.
- Ellis, A.E. 1988. Optimizing factors for fish vaccination. *In: Fish vaccination*. A.E. Ellis (Ed.). Academic Press Ltd. London. 32-46.
- Jutono, S., J. Hartadi, S. Kabirun, S. Suhadi, dan D. Soesanto. 1980. Pedoman praktikum mikrobiologi umum. Fakultas Pertanian UGM. Yogyakarta. 181 p.
- Kamiso, H.N. dan Triyanto. 1992. Vaksinasi monovalen dan polivalen vaksin untuk mengatasi serangan *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele (*Clarias sp.*). *Jurnal Ilmu Pertanian (Agriculture Science)*. 4 (8): 447-464.
- Kamiso, H.N., Triyanto, dan S. Hartati. 1992. Penanggulangan penyakit *motile aeromonas septisemia* (MAS) pada ikan Lele (*Clarias sp.*). ARM Project Tahun ke-1. Balitbang Pertanian, Deptan. Jakarta. 38 p.
- Kamiso, H.N. dan Triyanto. 1996. Vaksinasi *Aeromonas hydrophila* untuk menanggulangi penyakit MAS pada lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Prosiding Seminar Nasional II Penyakit Ikan dan Udang*. Balitbang Pertanian. Jakarta: 83-86.
- Kamiso, H.N., Triyanto, dan S. Hartati. 1997. Uji antigenisitas dan efikasi *Aeromonas hydrophila* pada lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Perikanan UGM (GMU J. Fish. Sci)*. 1 (2): 9-16.
- Kamiso, H.N., A. Isnansetyo, Murwantoko, dan B.S. Priyono. 1998. Pembuatan antigen murni untuk memproduksi polivalen antibodi dan vaksin *Aeromonas hydrophila*. *Laporan Penelitian Hibah Bersaing V/2 Perguruan Tinggi UGM*. 37 p.
- Leung, K.Y. 1987. The role of protease of *Aeromonas hydrophila* in infections of rainbow trout. PhD. Thesis. University of Guelph, Ontario. Canada.
- Murtiningsih. 2003. Penggunaan vaksin protein sitoplasma bakteri *Aeromonas hydrophila* pada lele dumbo (*Clarias gariepinus*). Skripsi. Fakultas Pertanian Jurusan Perikanan. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 70 p.
- Nugroho, E., S.L. Angka dan D. Bastiawan. 1990. Peningkatan daya tahan ikan terhadap infeksi *Aeromonas hydrophila* dengan cara vaksinasi. *Prosiding Seminar Nasional II Penyakit Ikan dan Udang 16-18 Januari*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Jakarta: 83-86.
- Olga. 2003. Pengendalian penyakit MAS (*motile aeromonas septisemia*) pada lele dumbo (*Clarias gariepinus*) melalui vaksinasi. Tesis. Program Pasca Sarjana. UGM. Yogyakarta. 118 p.
- Sarono, A., Kamiso H.N., I.Y.B. Lelono, Widodo, N. Thaib, E.B.S. Haryani, S.Hariyanto, Triyanto, Ustadi, A.N. Kusumahati, W. Novianti, S. Wardani, dan Setyaningsih. 1993. Hama dan penyakit ikan karantina golongan bakteri, buku 2. Kerjasama Pusat Karantina Pertanian dan Fakultas Pertanian Jurusan Perikanan UGM. Yogyakarta. 90 p.
- Subowo. 1993. *Imunobiologi*. Penerbit Angkasa. Bandung. 233 p.
- Supriyadi, H. dan M. Shariff. 1996. Determinasi virulensi beberapa isolat *Aeromonas hydrophila* dengan metode plate assay dan LD₅₀. *Prosiding Simposium Perikanan Indonesia I*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Jakarta: 279-284.

- Stevenson, R.M.W. 1988. Vaccination against *Aeromonas hydrophila*. In: Fish vaccination. A.E. Ellis (Ed.). Academic Press. London.: 112-123.
- Triyanto. 1990. Patogenisitas beberapa isolat *Aeromonas hydrophila* terhadap ikan lele (*Clarias batrachus* L.). Prosiding Seminar Nasional II Penyakit Ikan dan Udang 16-18 Januari. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Jakarta: 116-121.
- Triyanto, Kamiso H.N., A. Isnansetyo, dan Murwantoko. 1997. Pembuatan antigen murni untuk memproduksi polivalen antibodi dan vaksin *Aeromonas hydrophila*. Laporan Penelitian Hibah Bersaing V/1 Perguruan Tinggi Tahun Anggaran 1996/1997. Fakultas Pertanian UGM. Yogyakarta. 37 p.
- Volk, W. and M.F. Wheeler. 1988. Basic microbiology (Mikrobiologi dasar diterjemahkan oleh Markhan). Erlangga. Jakarta. 396 p.
- Wahab, A.S dan M. Julia. 2002. Sistem imun, imunisasi dan penyakit imun. Widya Medika. Jakarta. 101p.