

Full Paper

EFEKTIVITAS VAKSIN POLIVALEN UNTUK PENGENDALIAN VIBRIOSIS PADA
KERAPU TIKUS (*Cromileptes altivelis*)

EFFECTIVENESS OF POLYVALEN VACCINE TO CONTROL VIBRIOSIS
IN HUMPBAC GROUPE (*Cromileptes altivelis*)

Kamiso Handoyo Nitimulyo¹⁾, Alim Isnansetyo^{2*)}, Triyanto³⁾,
Muhammad Murdjani^{4**)}, dan Lili Sholichah⁵⁾

Abstract

The objective of this research was to know the effectiveness of polyvalen *Vibrio* vaccine to control vibriosis in humpback grouper (*Cromileptes altivelis*). The effectiveness of vaccine was evaluated by the survival rate (SR), relative percent survival (RPS), mean time to death (MTD) as well as growth rate of vaccinated fish. This research consisted of 4 treatments (control, injection, immersion, and oral vaccinations) in quadruplicates. Injection vaccination was conducted by intraperitoneal injection of polyvalen vaccine at 10^7 cells/fish. Immersion vaccination was done by immersing the fishes at 10^7 cells/ml for 30 minutes. Oral administration of vaccine was also carried out at 10^7 cells/fish. One week after the first vaccination, second vaccination (booster) was carried out at the same dosage and by the same administration. One week after the second vaccination, fishes were challenged with 3.16×10^4 cells/fish of *Vibrio ordalii* 3J by intraperitoneal injection, and reared for 20 days post infection. Results indicated that polyvalen *Vibrio* vaccine increased SR ($P < 0.01$) up to 100%. Vaccination was also able to delay MTD of fishes. However, the vaccination was not influence the growth rate of fish.

Key words: *Cromileptes altivelis*, polyvalen vaccine, vibriosis

Pengantar

Kerapu merupakan salah satu jenis ikan laut konsumsi yang populer dan mempunyai harga yang tinggi di pasaran Asia. Prospek budidaya kerapu di Indonesia cukup cerah dengan peningkatan permintaan pasar baik dalam maupun luar negeri.

Vibriosis adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* spp. Biasanya penyakit ini muncul sebagai patogen sekunder akibat infeksi primer oleh protozoa. Gejala kerapu tikus yang terserang penyakit bakteri tersebut antara lain: eritema dan haemoragik pada alat kelamin dan dubur, nekrosis (Bullock, 1971), ikan kelihatan lesu dan lemah, nafsu makan berkurang, sering berenang

ke permukaan, terjadi pembusukan pada bagian sirip, mata menonjol (*pop eye*), dan perubahan perilaku yaitu ikan berputar-putar (*whirling*) (Murdjani, 1997). Gejala internal ikan yang sakit menunjukkan pembengkakan dan kerusakan pada jaringan hati, ginjal dan limpa, haemoragik pada usus, rongga perut dan permukaan jantung dapat mengalami pendarahan, nekrotik dan berlendir (Ellis, 1988; Austin & Austin, 1993; Inglis *et al.* 1993).

Penyakit *vibriosis* biasanya diatasi dengan antibiotik dan desinfektan. Penggunaan antibiotik berdampak negatif yaitu timbul bakteri yang resisten (Larkins, 1993), penumpukan residu pada daging ikan dan udang, dan pencemaran lingkungan (Wu, *et al.* 1981; Ellis, 1988).

¹⁾ Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian UGM, Jl. Flora Bulaksumur, Yogyakarta Telp/Fax: (0274)551218

^{2*)} Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau, Jl. Pemandian Kartini PO BOX 1 Jepara

⁴⁾ Penulis untuk korespondensi, E-mail: isnansetyo@yahoo.com.

Vaksinasi merupakan salah satu cara pencegahan penyakit ikan dengan merangsang kekebalan ikan yang divaksin terhadap suatu penyakit tertentu pada ikan (Supriyadi & Rukyani, 1990). Disamping itu vaksinasi tidak menimbulkan dampak negatif baik pada ikan, lingkungan maupun konsumen. Dengan demikian, penggunaan vaksin mempunyai harapan yang cukup baik.

Vaksinasi dapat dilakukan secara rendaman, oral, atau suntikan. Efektivitas vaksin salah satunya dipengaruhi oleh cara vaksinasi tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas vaksin polivalen untuk pengendalian penyakit vibriosis pada kerapu tikus (*C. altivelis*)

Bahan dan Metode

Hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah kerapu tikus (*C. altivelis*) dengan panjang total sekitar 5 cm yang dipelihara dalam ember kapasitas 15 l dengan kepadatan 10 ekor/ember.

Isolat bakteri

Isolat bakteri yang digunakan untuk ujiantang adalah bakteri *V. ordalii* 3J hasil isolasi dari kerapu tikus sakit dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau Jepara.

Vaksin

Vaksin polivalen dibuat dari gabungan empat bakteri *Vibrio* sp., yang telah lulus uji antigenik dan imunogenik serta bersifat protektif (Tabel 1).

Tabel 1. Susunan vaksin polivalen

Spesies	Jenis antigen
<i>Vibrio</i> sp. 2J2 isolat dari Jepara	O
<i>Vibrio</i> sp. 24SK isolat dari Situbondo	H
<i>Vibrio</i> sp. 16G isolat dari Gondol	O
<i>Vibrio</i> sp. 2SA isolat dari Situbondo	H

Kultur bakteri dilakukan dengan menginokulasi 10 ml *Trypticase Soy Broth* (TSB, Oxoid, England) dan diinkubasi

selama 24 jam pada suhu 30°C. Setelah inkubasi kultur tersebut digunakan untuk menginokulasi *Trypticase Soy Agar* (TSA, Oxoid) pada cawan petri berdiameter 15 cm dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Setelah diinkubasi, kultur dipanen dan diinaktivasi dengan formalin 2% untuk antigen H, dan dengan pemanasan pada suhu 100°C selama 1 jam untuk antigen O (Kamiso & Triyanto, 1992). Selanjutnya dilakukan uji viabilitas pada medium *Thiosulphate Citrate Bile Sucrose Agar* (TCBSA, Oxoid). Semua media yang digunakan dalam penelitian ini dilarutkan dalam larutan tiga garam (*trisalt*) (NaCl 18,4 g/l; KCl 0,75 g/l; MgSO₄ 6,94 g/l).

Pakan ikan

Selama 35 hari masa pemeliharaan, ikan-ikan uji diberi pakan berupa rebon sehari 3 kali yakni pagi, siang, dan sore. Untuk membersihkan ember pemeliharaan dari kotoran ikan dan sisa pakan dilakukan penyifonan 2 kali sehari pada pagi dan sore.

Kualitas air

Pengamatan dan pengukuran kualitas air dilakukan setiap minggu selama pemeliharaan, pada pagi dan sore hari.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (*Completely Randomized Design*) (Gomez & Gomez, 1995) yang terdiri dari 4 perlakuan dan 4 ulangan. Keempat perlakuan tersebut adalah: kontrol, vaksinasi dengan suntikan, rendaman, dan oral.

Vaksinasi suntikan dilakukan secara *intraperitoneal* dengan dosis 0,1 ml/ikan dengan kepadatan bakteri 10⁷ sel/ikan. Vaksinasi rendaman dilakukan dengan cara merendam ikan uji dalam emulsi vaksin dengan konsentrasi 10⁷ sel/ml selama 30 menit, dan vaksinasi oral dilakukan dengan cara memasukkan ke dalam mulut secara paksa (*mencekok*, Jawa) ikan dengan emulsi vaksin 0,1 ml dengan kepadatan 10⁷ sel/ikan. Sebelum divaksin, ikan diadaptasi dalam ember

pemeliharaan selama 3-5 hari. Seminggu setelah vaksinasi dilakukan *booster*. Ujiantang dilakukan seminggu setelah *booster*, dengan menginjeksi ikan dengan *V. ordalii* 3J sebanyak $3,16 \times 10^4$ sel/ikan secara intraperitoneal. Setelah ujiantang ikan dipelihara selama 3 minggu untuk pengamatan sintasan, tingkat perlindungan relatif (RPS) dan rerata waktu kematian (MTD). Sampling panjang dan berat tubuh ikan dilakukan pada awal dan akhir pemeliharaan untuk menghitung pertumbuhan relatif kerapu tikus.

Rumus-rumus yang digunakan untuk perhitungan adalah:

$$\text{Sintasan} = \frac{N_t}{N_0} \times 100\%$$

Keterangan:

N_t : jumlah ikan hidup pada akhir penelitian

N_0 : jumlah ikan pada awal penelitian

Tingkat Perlindungan Relatif (*Relatif Percent Survival* = RPS)

$$\text{RPS} = \left[1 - \frac{\% \text{ kematian yang divaksin}}{\% \text{ kematian yang tidak divaksin}} \right] \times 100\%$$

Rerata Waktu Kematian (*Mean Time to Death* = MTD)

$$\text{MTD} = \frac{\sum_{i=1}^n a_i b_i}{\sum_{i=1}^n b_i}$$

Keterangan:

a : waktu kematian (hari)

b : jumlah ikan yang mati (ekor)

Pertumbuhan Relatif

$$L = \frac{L_t - L_0}{L_0}$$

$$W = \frac{W_t - W_0}{W_0}$$

Keterangan:

L : Pertumbuhan panjang relatif

L_0 : Panjang awal (cm)

L_t : Panjang akhir (cm)

W : Pertumbuhan berat relatif

W_0 : Berat awal (g)

W_t : Berat akhir (g)

Data yang diperoleh dianalisis varian (ANOVA), dan apabila berbeda nyata dilanjutkan uji jarak ganda Duncan (*Duncan Range Multiple Range Test*)

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa vaksinasi meningkatkan sintasan kerapu tikus ($P < 0,01$). Rerata sintasan kontrol sebesar 80%, sedangkan rerata sintasan ikan yang divaksin mencapai 100%. Akan tetapi, tidak beda nyata ($P > 0,05$) antar perlakuan vaksinasi suntik, rendam, dan oral (Tabel 2.)

Tabel 2. Sintasan kerapu tikus yang diinfeksi *V. ordalii* 3J setelah vaksinasi

Perlakuan	Sintasan (%)
Kontrol	$80 \pm 8,16^a$
Suntik	$100 \pm 0,00^b$
Rendam	$100 \pm 0,00^b$
Oral	$100 \pm 0,00^b$

Keterangan: rerata yang diikuti huruf *superscript* yang sama tidak berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$

Sintasan yang diperoleh pada setiap perlakuan menunjukkan tingkat daya tahan ikan terhadap serangan *V. ordalii* 3J pada saat ujiantang. Secara umum, perlakuan yang divaksin memiliki sintasan yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol. Hasil tersebut juga menunjukkan bahwa vaksinasi menggunakan vaksin polivalen dapat dilakukan dengan semua cara (suntik, rendaman, dan oral). Hal tersebut juga ditunjukkan oleh nilai RPS yang sama antara vaksinasi dengan cara suntik, rendam, dan oral yang masing-masing mencapai 100%.

Hasil di atas kurang sesuai dengan pendapat yang dikemukakan oleh Kamiso & Triyanto (1992) bahwa pada umumnya efikasi vaksin tertinggi diperoleh dengan cara suntik, disusul rendaman, dan kemudian oral. Vaksinasi *A. hydrophila* dengan cara suntik, oral, dan rendam menunjukkan bahwa cara suntik lebih

efektif daripada cara rendaman, dan cara rendaman lebih efektif daripada cara oral.

Hasil perhitungan Rerata Waktu Kematian (RWK) menunjukkan bahwa vaksinasi mampu menunda waktu kematian kerapu tikus yang diinfeksi *V. ordalii* 3J. Vaksinasi dengan suntik, rendaman, dan oral mempunyai nilai MTD tak terhingga (∞) yang berarti tidak terjadi kematian. Nilai MTD pada ikan yang tidak divaksin adalah 8 hari (Tabel 3).

Tabel 3. Rerata waktu kematian kerapu tikus yang diinfeksi *V. ordalii* 3J pada ujiantang

Perlakuan	Rerata waktu kematian (hari)
Kontrol	8 ± 0^a
Suntik	$\infty \pm 0^b$
Rendam	$\infty \pm 0^b$
Oral	$\infty \pm 0^b$

Keterangan: rerata yang diikuti huruf *superscript* yang sama tidak berbeda nyata pada $\alpha=0,01$.

Kamiso & Triyanto (1992) menunjukkan bahwa vaksinasi hanya melindungi ikan dari serangan bakteri dan jika ikan yang divaksin dapat terserang maka perlakuan vaksinasi tidak berpengaruh nyata terhadap perkembangan penyakit sehingga rerata waktu kematian tidak mempunyai

perbedaan dengan ikan yang tidak divaksin.

Pertumbuhan panjang relatif tubuh ikan antara perlakuan vaksinasi suntik, rendam, oral dengan kontrol menunjukkan bahwa tidak ada beda nyata ($P>0,05$) (Tabel 4). Hal ini kemungkinan disebabkan jangka waktu pemeliharaan yang hanya 35 hari, dan diketahui pertumbuhan kerapu tikus termasuk pertumbuhan yang lambat.

Pertambahan berat relatif selama pemeliharaan tidak berbeda nyata ($P>0,05$) antar perlakuan vaksinasi dengan kontrol (Tabel 4).

Tabel 4. Pertumbuhan relatif kerapu tikus yang diinfeksi *V. ordalii* 3J selama pemeliharaan

Perlakuan	Panjang Relatif (cm)	Berat Relatif (g)
Kontrol	$0,24 \pm 0,067^a$	$1,00 \pm 0,707^b$
Suntik	$0,18 \pm 0,058^a$	$1,38 \pm 0,853^b$
Rendam	$0,16 \pm 0,040^a$	$0,81 \pm 0,554^b$
Oral	$0,82 \pm 0,038^a$	$0,75 \pm 0,500^b$

Keterangan: rerata pada kolom yang diikuti huruf *superscript* yang sama tidak berbeda nyata pada $\alpha=0,05$

Perkembangan gejala penyakit yang timbul dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Perkembangan gejala eksternal selama ujiantang

Hari ke-n	Gejala eksternal
1-2	Tidak aktif, terlihat lemas, respon kurang, nafsu makan rendah, dan lendir berlebih
3-5	Ikan kelihatan mulai bergerak aktif, nafsu makan tinggi, respon bagus, lendir mulai berkurang
6-8	Ikan berenang ke permukaan dan bergerak berputar-putar (<i>whirling</i>), nafsu makan meningkat. Secara umum kontrol lebih sering dan lebih lama di permukaan, serta lebih banyak berputar-putar (<i>whirling</i>).
9-21	Ikan mulai berenang ke dasar ember dan cenderung bergerombol, respon bagus, nafsu makan tinggi, lendir normal

Secara umum gejala penyakit yang ditimbulkan *V. ordalii* 3J adalah haemoragik pada pangkal pinnae abdominales, mulut, operculum, dan anus, abdomen berwarna kuning, organ dalam lambung, dan usus mengalami pembengkakan. *V. ordalii* biasanya menyerang skeletal dan otot cardiac, menimbulkan nekrosis serta luka pada insang, menyerang saluran pencernaan dan dapat menyebabkan timbulnya *leucopenia* (Anonim, 2004).

Menurut Ransom *et al.* (1984) *cit.* Murdjani (2002), pada uji infeksi dengan cara perendaman yang dilanjutkan dengan pengamatan histopatologi pada bakteri *V. anguillarum* dan *V. ordalii*, bakteri tersebut menyerang ikan terutama melalui saluran pencernaan dan sebagian kecil melalui kulit. Dua puluh empat jam sesudah infeksi bakteri *V. anguillarum* di kulit, waktu yang diperlukan untuk timbulnya gejala infeksi lebih pendek dibanding dengan di insang dan saluran pencernaan.

Kualitas air selama ujiantang disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Kualitas air selama ujiantang

Parameter		Pagi	Sore
DO (ppm)	K	5,70 ± 1,03	5,38 ± 0,79
	S	6,22 ± 0,63	5,50 ± 0,65
	R	6,03 ± 0,43	5,45 ± 0,77
	O	6,06 ± 0,48	5,47 ± 0,75
Suhu (°C)	K	27,85 ± 1,04	29,99 ± 0,65
	S	26,88 ± 1,04	29,88 ± 0,35
	R	26,92 ± 0,92	29,95 ± 0,28
	O	26,94 ± 0,88	30,24 ± 0,35
pH	K	7,61 ± 0,10	7,61 ± 0,10
	S	7,61 ± 0,08	7,53 ± 0,10
	R	7,64 ± 0,06	7,53 ± 0,08
	O	7,68 ± 0,09	7,53 ± 0,08
Salinitas (ppt)	K	30,0 ± 0,0	30,0 ± 0,0
	S	30,0 ± 0,0	30,0 ± 0,0
	R	30,0 ± 0,0	30,0 ± 0,0
	O	30,0 ± 0,0	30,0 ± 0,0

Keterangan: K, kontrol; S, vaksinasi suntik; R, vaksinasi rendam; O, vaksinasi oral.

Kandungan oksigen, suhu, dan pH air selama pemeliharaan berturut-turut 5,38-6,22 ppm, 26,88-30,24°C, dan 7,53-7,68. Salinitas stabil pada 30 ppt. Kualitas air tersebut sesuai untuk kehidupan kerapu

tikus seperti yang dikemukakan oleh Yushimitsu *et al.* (1986) yang menyebutkan parameter ekologi yang cocok untuk pertumbuhan kerapu, yaitu suhu air antara 24-31°C, salinitas antara 30-33 ppt, kandungan oksigen terlarut lebih dari 3,5 ppm, dan pH 7,8-8.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa vaksinasi dengan vaksin polivalen dapat menanggulangi vibriosis pada kerapu tikus. Penelitian lanjutan perlu dilakukan dengan meningkatkan kepadatan sel *V. ordalii* 3J yang digunakan untuk ujiantang. Selain itu juga perlu dilakukan penelitian dengan spesies kerapu lain atau dengan bakteri *Vibrio* lain untuk ujiantang.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini merupakan rangkaian Riset Unggulan Nasional (RUSNAS) kerapu yang dibiayai oleh Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT), Kementerian Negara Riset dan Teknologi.

Daftar Pustaka

- Anonim. 2004. Vibriosis in fish. www.hmsc.orst.edu/classes/MB492/VanguillarumKim/Vibriosis.htm. Diakses tanggal 18 Agustus 2004.
- Austin, B. and D.A. Austin. 1987. Bacterial fish pathogens: diseases in farmed and wild fish. John Wiley and Sons. Chichester. 364 p.
- Bullock, G.L. 1971. Diseases of fishes. Book 2A: bacterial diseases of fishes. TFH Pub. Neptune: 42-50
- Effendie, M.I. 1997. Biologi perikanan. Yayasan Pustaka Nusatama. Bogor.
- Ellis, A.E. 1988. General principles of fish vaccination. *In*: Fish Vaccination. A.E. Ellis (Ed.). Academic Press. London: 1-19.
- Gomez, K.A. and A.A. Gomez. 1995. Statistical procedures for agricultural

- research. (Prosedur statistik untuk penelitian pertanian, diterjemahkan oleh E. Samsudin dan J.S. Baharsah). Universitas Indonesia Press. Jakarta. 689 p.
- Inglis, V., R.J. Robert, and N.R. Bromage 1993. Bacterial diseases of fishes. Blackwell Scientific. Pub. London. 283 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. 4(8): 447-464.
- Larkins, P.E. 1993. Shrimp diseases and shrimp farm management on the Malacca straits coast of North Sumatra Province. NESPP/ODA and Directorate General of Fisheries of Indonesia. 108 p.
- Murdjani, M. 1997. Pembenuhan ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) dalam bak terkendali di Loka Budidaya Air Payau Situbondo. Ditjen Perikanan. Departemen Pertanian. 9 p.
- Murdjani, M. 2002. Identifikasi dan patologi bakteri *Vibrio alginolyticus* pada ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*). Disertasi Doktor. Program Pascasarjana. Universitas Brawijaya. Malang.
- Supriyadi, H. dan A. Rukyani. 1990. Imunoprofilaksis dengan cara vaksinasi pada usaha budidaya ikan. Seminar Nasional II Penyakit Ikan dan Udang. Balai Penelitian Perikanan Air Tawar. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian: 64-70.
- Wu, J., H. Lin, L. Jan, Y. Hsu, and Chang. 1981. Biological control of fish bacterial pathogen *Aeromonas hydrophila* by bacteriophage ϕ I. Fish Patol. 15(3/4): 271-276.
- Yushimitsu, T., H. Eda, and K. Hiramatsu. 1986. Groupers final report marine-culture research and development in Indonesia. ATA-192. JICA: 103-129.