

POTENSI IMMUNOGENIK PATOGEN DAN ALGINAT DALAM MENIMBULKAN KEKEBALAN PADA IKAN PATIN JAMBAL

Hambali Supriyadi dan Taukhid

ABSTRAK

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui potensi immunogenik dari *Aeromonas hydrophila* yang diisolasi dari ikan patin, untuk dapat digunakan dalam usaha pencegahan penyakit tersebut. Vaksin dibuat dengan metode standar dan diaplikasikan kepada ikan patin dengan cara perendaman dengan dosis 0, 10⁶, 10⁷, 10⁸, dan 10⁹ cfu/mL. Booster diberikan sebulan setelah perlakuan awal dengan cara injeksi sebanyak 0,1 mL/ekor ikan. Immunostimulan lain yang dipakai adalah alginat (Ergosan), diberikan melalui pakan dengan dosis 0, 1, 2, 3, dan 4 g/kg pakan selama 7 hari berturut-turut. Dua minggu setelah perlakuan akhir ikan kemudian diuji tantang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa baik *Aeromonas hydrophila* maupun alginat tidak bersifat immunogenik dan tidak dapat menimbulkan kekebalan pada ikan patin. Sintasan tertinggi diperoleh dari perlakuan dosis vaksin 10⁹ cfu/mL (31,6%) dan Alginat 4 g/kg pakan (3,3%).

ABSTRACT: *Immunogenicity of the pathogen Aeromonas hydrophila and alginat and its role in the stimulation of the immune system on patin jambal (Pangasius djambal). By: Hambali Supriyadi and Taukhid*

Aim of this study is to investigate the immunogenicity of Aeromonas hydrophila and alginat (Ergosan) in the stimulation of the immune system on patin (Pangasius djambal). Vaccine with dose of 10⁰, 10⁶, 10⁷, 10⁸, and 10⁹ cfu/mL were delivered by immersion for 15 minutes. Booster was given at one month after priming by injection of 0.1 mL/fish. Alginat of 0, 1, 2, 3, and 4 g/kg of food, was given orally for 7 days respectively with the rate of 3 % of body weight. Challenge test was applied at 2 weeks after the last treatment. The results indicated that either Aeromonas hydrophila or alginat was not able to stimulate the immune system on patin (Pangasius djambal). The highest survival rate was attained on vaccine treatment of 10⁹ cfu/mL (31.6%) and alginat of 4 g/kg food (3.3%).

KEYWORDS: *immunogenicity, Aeromonas hydrophila, immunostimulant, vaccine, alginat, Pangasius djambal*

PENDAHULUAN

Ikan patin jambal (*Pangasius djambal*) merupakan salah satu komoditas ikan lokal yang cukup potensial. Namun dalam pengembangan usaha budi dayanya selalu dihadapkan dengan berbagai masalah. Salah satu masalah serius yang selalu dihadapi oleh petani ikan adalah masalah penyakit ikan. Kerugian yang diakibatkan oleh penyakit tersebut dapat mengakibatkan kematian sekitar 50%--100% (Supriyadi & Taufik, 1981; Taufik, 1992; Supriyadi & Rukyani, 1990).

Hasil penelitian tahun 2000 telah menunjukkan bahwa ikan patin dapat terinfeksi oleh beberapa penyakit parasitik dan penyakit bakterial. Penyakit parasitik yang paling banyak menimbulkan kerugian adalah penyakit akibat infeksi *Ichthyophthirius* sp. di mana kematian dapat mencapai 90% dari populasi. Penyakit bakterial seperti infeksi *Aeromonas* sp.,

Pseudomonas sp., dan *Fleksibacter* sp. merupakan penyakit yang dapat menimbulkan kerugian yang tidak sedikit.

Pengobatan penyakit dengan menggunakan bahan kimia dan antibiotika telah banyak dilakukan (Meyer, 1964). Namun penggunaan bahan-bahan tersebut secara terus-menerus akan menimbulkan masalah baru berupa timbulnya bakteri yang tahan terhadap bahan tersebut.

Penanggulangan dengan cara pencegahan antara lain dengan menggunakan vaksin merupakan cara yang cukup efektif dan efisien. Penelitian semacam ini telah banyak dilakukan dan menunjukkan hasil yang menjanjikan (Tatner & Horne, 1984; Supriyadi & Shariff, 1995).

Dalam tulisan ini dikemukakan hasil penelitian tentang penggunaan immunostimulan alginat bagi

pencegahan parasit *Ichthyophthirius multifiliis* dan penggunaan vaksin bagi pencegahan penyakit bakterial pada ikan patin jambal.

BAHAN DAN METODE

Ikan yang digunakan adalah ikan patin jambal (*Pangasius djambal*) hasil pembenihan di Loka Riset Pemuliaan dan Teknologi Budidaya Perikanan Air Tawar, Sukamandi dengan bobot rata-rata 3,5 g dan panjang rata-rata 7,3 cm.

Vaksin dibuat dari bakteri yang menunjukkan sifat immunogenik hasil isolasi dan dibuat dengan metode standar. Sedangkan bahan immunostimulator yang digunakan adalah alginat komersial (Ergosan) produksi AquaVac.

Vaksin diaplikasikan dengan cara perendaman, dosis vaksin 10⁶, 10⁷, 10⁸, 10⁹, cfu/mL. Vaksin ulang (*booster*) dilakukan melalui suntikan yang dilaksanakan sebulan setelah vaksinasi awal dengan dosis 0,1 mL/ekor ikan. Jumlah ikan yang digunakan adalah sebanyak 20 ekor untuk tiap perlakuan. Tiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali.

Immunostimulan dengan dosis 0, 1, 2, 3, dan 4 g/kg pakan diberikan bersama pakan selama 7 hari berturut-turut sebanyak 3% dari bobot tubuh yang terlebih dahulu dilarutkan dengan air hangat kemudian dicampur dengan pakan pelet dan dilapisi dengan minyak sayur. Jumlah ikan yang digunakan sebanyak 20 ekor untuk tiap perlakuan, dan tiap perlakuan terdiri atas 3 kali ulangan.

Uji ketahanan dilakukan dengan uji titer antibodi dan ujiantang serta analisis darah meliputi jumlah haematokrit, diferensial leukosit, dan indek fagositik yang dilakukan 2 minggu setelah perlakuan akhir. Jumlah sampel untuk analisis darah sebanyak 4 ekor untuk setiap perlakuan.

Haematokrit diukur dengan jalan memasukkan darah pada tabung haematokrit kemudian diputar

dengan menggunakan *haematocrit centrifuge* selama 15 menit pada putaran 3.500 rpm. Pembacaan dilakukan dengan alat pembaca haematokrit.

Diferensial leukosit diuji dengan jalan pembuatan *preparat smear* dari darah ikan uji, kemudian dicat dengan menggunakan larutan giemsa. Jumlah limfosit, monosit, neutrofil, dan trombosit dihitung untuk setiap 100 sel darah putih yang dilakukan di bawah mikroskop.

Indeks fagositik diukur dengan metode ulas indeks fagositik menurut metode Anderson & Siwicki (1993). Sebanyak 100 mL darah dimasukkan ke dalam cawan mikrotiter dan ditambahkan sebanyak 100 mL suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* pada kepadatan 10⁷ cfu/mL dalam *Phosphat Buffer Saline* (PBS), dicampur secara homogen dan diinkubasikan selama 20 menit. Selanjutnya dibuat preparat ulas (*smear*), difiksasi dengan metanol, dan diwarnai dengan cat giemsa selama 15 menit. Pengamatan dilakukan terhadap aktivitas fagositik dari masing-masing komponen darah putih pada setiap 100 sel polimorfonuklear (PMN).

HASIL DAN BAHASAN

Pemberian alginat dengan dosis 0, 1, 2, 3, dan 4 g/kg pakan ternyata tidak dapat menimbulkan kekebalan terhadap infeksi *Ichthyophthirius* sp. pada ikan patin. Hal ini terlihat dari hasil ujiantang dengan parasit Ich yang menunjukkan bahwa ikan mati semua pada perlakuan 0, 1, 2, dan 3 g/kg pakan pada hari ke-5 setelah ujiantang. Sedangkan pada dosis 4 g/kg pakan didapat sintasan rata-rata 3,3%. Kadar haematokrit darah juga tidak menunjukkan perbedaan yang nyata di antara perlakuan seperti terlihat pada Tabel 1. Kelihatannya daya immunogenik dari alginat ini baru bisa timbul pada dosis yang cukup tinggi. Dari gambaran tersebut mungkin penggunaan alginat yang lebih besar dari 4 g/kg pakan, baru efektif untuk dipakai sebagai bahan yang dapat menimbulkan kekebalan yang cukup pada ikan patin jambal.

Tabel 1. Kadar haematokrit dan sintasan (%) pada ikan dengan perlakuan pemberian alginat pada berbagai dosis

Table 1. *Haematocrit value and survival (%) of fish treated with different doses of alginat*

Dosis alginat (Dose of alginat) g/kg pakan (feed)	Sintasan (Survival rate) (%)*	Kadar Haematokrit (Haematocrit value) (%)
0	0	26.6 ^a
1	0	33.1 ^a
2	0	30.0 ^a
3	0	29.6 ^a
4	3.3	33.6 ^a

Keterangan (Note)^a = hasil rata-rata dari tiga ulangan (*the average of three replicates*)

Dari hasil pengamatan terhadap diferensial leukosit ternyata bahwa limfosit menunjukkan jumlah yang paling tinggi, kemudian diikuti oleh monosit dan neutrofil. Hal ini sesuai dengan yang telah dikemukakan oleh Junita (2002), bahwa jumlah limfosit dan monosit menduduki jumlah tertinggi dibandingkan dengan jumlah neutrofil. Namun demikian secara statistik tidak ada perbedaan yang nyata antara perlakuan dosis alginat terhadap jumlah baik limfosit, monosit, maupun neutrofil. Alginat menurut beberapa penelitian berfungsi sebagai immunostimulan. Immunostimulan dapat berasal dari komponen bakteri, ekstrak tumbuhan dan hewan, serta faktor nutrisi (Galeotti, 1998). Menurut Raa *et al.* (1992), immunostimulan merupakan senyawa biologis, sintesis, atau bahan lainnya yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Apabila masuk ke dalam tubuh maka immunostimulan akan merangsang

makrofag untuk memproduksi interleukin yang akan mengaktifkan sel limfosit yang kemudian membelah menjadi limfosit-T dan limfosit-B. Selanjutnya limfosit-T akan memproduksi interferon yang mampu mengaktifkan kembali makrofag, sehingga dapat memfagosit bakteri, virus, dan partikel asing lainnya yang masuk ke dalam tubuh ikan. Jumlah trombosit adalah yang paling sedikit apabila dibandingkan dengan ketiga komponen leukosit (Tabel 2). Fungsi dari trombosit pada ikan seperti halnya pada binatang kelas tinggi yaitu untuk membantu dalam proses penjendalan.

Pengamatan terhadap indeks fagositik yaitu kemampuan sel leukosit dalam memfagosit benda asing, menunjukkan bahwa tidak ada efek pemberian dosis alginat yang diberikan terhadap kemampuan sel dalam memfagosit bakteri *Staphylococcus aureus* seperti terlihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Jumlah limfosit, monosit, neutrofil, dan trombosit (%) yang dihitung tiap 100 sel "Poly Morpho Nuclear" (PMN) pada darah ikan patin jambal yang diperlakukan dengan dosis alginat yang berbeda

Table 2. Percentage of lymphocyt, monocyt, neutrophil, and thrombocyt counted in every 100 cells of polymorpho nuclear of *Pangasius djambal* blood treated with different doses of alginat

Dosis alginat pakan Dose of alginat feed mg/kg	Jumlah dari (Number of) ^{*)}			
	Limfosit Lymphocyt (%)	Trombosit Thrombocyt (%)	Monosit Monocyt (%)	Neutrofil Neutrophil (%)
0	43.0 a	3.0 a	40.6 a	13.3 a
1	45.3 a	3.3 a	37.0 a	14.3 a
2	41.0 a	4.0 a	41.6 a	13.6 a
3	40.0 a	4.6 a	37.0 a	18.3 a
4	48.0 a	1.6 a	38.6 a	15.0 a

Keterangan (Note) ^{*)} = hasil rata-rata dari 3 kali ulangan (the average of three replicates)

Angka dengan kode huruf yang sama tidak menunjukkan perbedaan nyata (Numbers with the same code indicating no significant difference)

Tabel 3. Indeks fagositik (%) dari limfosit, monosit, dan neutrofil dari darah ikan patin jambal yang diberi perlakuan alginat dengan berbagai dosis

Table 3. Phagositic index (%) of lymphocyt, monocyt, and neutrophil of *Pangasius djambal* blood treated with different doses of alginat

Dosis alginat pakan Dose of alginat feed mg/kg	Indeks fagositik (Phagocytic index) (%) ^{*)}		
	Limfosit Lymphocyt	Monosit Monocyt	Neutrofil Neutrophil
0	5.0 a	10.0 a	2.5 a
1	12.5 a	17.5 a	2.5 a
2	5.0 a	17.5 a	2.5 a
3	7.5 a	25.0 a	2.5 a
4	12.5 a	22.5 a	7.5 a

Keterangan (Note) ^{*)} = hasil rata-rata dari 2 ulangan (the average of two replicates)

Angka dengan kode huruf yang sama tidak menunjukkan perbedaan nyata (Numbers with the same code indicated no significant difference)

Tabel 4. Kadar haematokrit dan sintasan (%) pada ikan dengan perlakuan pemberian vaksin pada berbagai dosis

Table 4. Haematocrit value and survival rate (%) of fish treated with different doses of vaccine

Dosis vaksin Dose of vaccine cfu/mL	Sintasan Survival rate % ^{a)}	Kadar haematokrit Haematocrit value %
100*	0	26.1
106*	0	25.3
107*	0	29.5
108*	0	31.5
109*	31.6	32.1

Keterangan (Note)^{a)} = hasil rata-rata dari tiga ulangan (the average of three replicates)

Bakteri *Aeromonas hydrophila* hasil isolasi dari ikan patin yang digunakan sebagai bahan vaksin ternyata kurang bersifat immunogenik. Artinya bakteri tersebut kurang bagus untuk dijadikan bahan vaksin karena baru dapat menimbulkan rangsangan pembentukan kekebalan pada dosis 10^9 cfu/mL. Dosis ini cukup tinggi apabila dibandingkan dengan *Aeromonas hydrophila* strain 26 yang sudah menimbulkan rangsangan pada dosis 10^7 cfu/mL (Supriyadi & Shariff, 1995). Hal ini terbukti dari hasil ujiantang yang menunjukkan bahwa sintasan rata-rata tertinggi hanya 31,6% dari perlakuan pemberian vaksin dengan dosis tertinggi yaitu 10^9 cfu/mL. Demikian juga kadar haematokrit tertinggi didapat pada perlakuan dosis vaksin tertinggi (Tabel 4).

Jadi kalau suatu vaksin baru dapat menimbulkan imunitas pada dosis yang cukup tinggi, maka dipertimbangkan bahwa vaksin tersebut kurang efektif. Hal ini diakibatkan karena sifat antigen yang kurang antigenik. Hasil pengamatan terhadap titer antibodi juga menunjukkan bahwa titer antibodi dalam plasma darah hanya dapat bereaksi pada taraf pengenceran yang rendah. Artinya reaksi antigen antibodi hanya dapat berlangsung pada konsentrasi antibodi yang cukup tinggi.

KESIMPULAN

Alginat (Ergosan) dan vaksin *Aeromonas hydrophila* yang dibuat dari antigen yang berasal dari patogen yang diisolasi dari ikan patin kurang efektif untuk digunakan dalam menimbulkan kekebalan pada ikan patin.

DAFTAR PUSTAKA

Anderson, D.P. and A.K. Siwicki. 1993. Basic Haematologi and Serologi for Fish Health Program. Paper Presented in Second Symposium on Diseases

in Asian Aquaculture "Aquatic Animal Health and the Environment" Phuket, Thailand. 25--29th October 1993. p. 185--202.

Galeotti, M. 1998. Some aspects of the application of immunostimulants and a critical review of methods for their evaluation. *J. Ichthyology*. 14: 89--199.

Junita. 2002. *Potensi Spirulina platensis sebagai Immunostimulan pada Ikan Patin (Pangasius djambal Bleeker)*. Tesis, Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor. 48 pp.

Meyer, F.P. 1964. Field treatments of *Aeromonas liquefaciens* infection in Golden Shiners. *Prog. Fish. Cult.* 26:33--35.

Raa, J., G. Roerstad, R. Engstad, and B. Robersten. 1992. The use of immunostimulant to increase resistance of aquatic organisme to microbial infection. In *Diseases in Asian Aquaculture I* M. Sharif, R. P. Subangsihe and J. R. Arthur (Eds.). Fish Health Sect. Asian Fish. Soc. Manila. Philippines. p. 39--50.

Supriyadi, H. dan P. Taufik. 1981. Identifikasi dan cara penanggulangan penyakit bakterial pada ikan lele (*Clarias batrachus*). *Bull. Perik.* 1 (3): 447--454.

Supriyadi, H. dan A. Rukyani. 1990. Immunopropilaksis dengan cara vaksinasi pada usaha budi daya ikan. *Seminar Nasional II, Penyakit Ikan dan Udang, Bogor*. 16--18 Januari 1990. 6 pp.

Supriyadi, H. and M. Shariff. 1995. Evaluation of the immune response and protection conferred in walking catfish, *Clarias batrachus*, administered inactivated *Aeromonas hydrophila* bacterin by immersion. In *Diseases in Asian Aquaculture II*. M. Shariff, J.R. Arthur and Subasinghe (eds.) Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila. Philippines. p. 405--412.

Tatner, M.F. and M.T. Horne. 1984. The effect of early exposure to *Vibrio anguillarum* vaccine on the immune response of the fry of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Dis.* 41:193--202.

Taufik, P. 1992. Penyakit pada ikan gurame (*Osphronemus gouramy Lac.*) dan penanggulangannya. *Makalah pada Pertemuan Aplikasi Teknologi Budi daya Ikan Gurame, 24--26 Agustus 1992 di Yogyakarta*.