

Uji Lapang Pakan Bervaksin *Aeromonas hydrophila* pada Lele Dumbo di Daerah Banyumas

Dini Siswani Mulia, Irma Tri Susanti, Heri Maryanto, dan Cahyono Purbomartono

P. Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Purwokerto
Jl. Raya Dukuh Waluh PO BOX 202 Purwokerto 53182 Tlp. 0281-636751, Fax. 0281-637239

*Email: dinisiswanimulia@ump.ac.id, dsiswanimulia@yahoo.com

Abstract: The main problem in the cultivation of African catfish is a disease MAS (Motile *Aeromonas* Septicemia) *Aeromonas hydrophila* bacteria attack. In addition, other problems that also resulted in the successful cultivation of this fish is the high price of fish feed and the cost of production for the procurement of the feed. Needs to be studied the use of feed raw materials that utilize industrial waste as well as the use of vaccines in controlling disease MAS. This study aims to apply feed made from 3 waste, namely chicken feathers, pulp, and trash fish, then add the vaccine (vaccine feed) and tested in the field. Field test conducted in the village of Bangsa, District of Kebasen, Banyumas. This study uses a completely randomized design (CRD) with 3 treatments and 5 replications. The treatment consisted of P1 = vaccine feed 10 days; P2 = vaccine feed 15 days, and P3 = no vaccine feed (controls). Feed was given as much as 5% of the weight of fish / day. Research using plastic tarp length x width x height = 80 x 60 x 60 cm. African catfish which used a length of 10-13 cm with a weight of 7.3 to 21.1 g. Fish reared for 8 weeks. Parameters measured were immune response such as antibody titer, weight gain and length, specific growth rate (SGR), as well as survival. Parameters measured were supporting water quality parameters include water temperature, pH, and dissolved oxygen. Data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) and Duncan Multiple Range Test (DMRT test) with a test level of 5%. The results showed that the vaccine could increase the production of antibody titers ($P < 0.05$) compared to controls. The use of artificial feed of chicken feathers, pulp, and trash fish are added the vaccine (vaccine feed) can be applied in the field.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*, Banyumas, field test, vaccine feed

1. PENDAHULUAN

Lele dumbo sampai saat ini cukup prospektif dibudidayakan mengingat permintaan pasar terhadap ikan ini masih sangat tinggi. Namun, budidaya ikan ini masih mendapat kendala atau masalah. Permasalahan utama yang sering muncul dalam budidaya ikan air tawar tidak terkecuali lele dumbo adalah masalah pakan dan penyakit. Permasalahan ini terjadi hampir di semua usaha budidaya ikan air tawar di Indonesia. Upaya mengatasi permasalahan ini perlu dilakukan tidak hanya oleh instansi terkait, khususnya dinas perikanan, akan tetapi pihak akademisi pun sangat dinantikan partisipasinya. Pakan ikan, bagi pembudidaya ikan di Indonesia merupakan komponen yang membutuhkan biaya paling tinggi dalam setiap usaha budidaya ikan, karena biaya pakan mencapai sekitar 60-70 % dari keseluruhan biaya produksi (Nasution, 2006). Padahal, harga pakan ikan cenderung naik dari tahun ke tahun. Kenaikan harga pakan dipicu oleh naiknya harga tepung ikan yang selama ini masih diimpor dari luar negeri. Sekitar 80 % bahan pakan yang digunakan untuk membuat pakan ikan berasal dari impor (Melati *et al.*, 2010). Di sisi lain, harga jual ikan air tawar cenderung stabil.

Kondisi ini jika dibiarkan terus-menerus sangat merugikan petani ikan.

Oleh karena itu, perlu dicari alternatif memanfaatkan bahan pakan yang murah, mudah diperoleh, dan tersedia setiap saat dalam jumlah yang mencukupi, Apalagi jika dapat mengolah limbah menjadi bahan pakan. Selain dapat membantu mengatasi permasalahan limbah, juga harganya relatif murah atau belum bernilai ekonomis tinggi, serta meningkatkan daya guna limbah tersebut. Namun, syarat limbah yang akan dijadikan bahan pakan ikan harus memiliki nilai nutrisi yang tinggi, terutama kadar proteinnya. Beberapa limbah yang masih memiliki kadar protein tinggi adalah limbah bulu ayam, ampas tahu, dan ikan rucah. Bulu ayam yang belum diolah memiliki kadar protein kasar sebesar 98,68% (Supriyati *et al.*, 2000). Namun, protein bulu ayam merupakan jenis protein yang sulit dicerna, karena tergolong jenis protein keratin (Joshi *et al.*, 2007). Bulu ayam dapat difermentasi dengan *Bacillus licheniformis* B2560 untuk mendegradasi keratin sehingga dapat meningkatkan kualitas bulu ayam (Mulia *et al.*, 2014a). Ampas tahu masih layak dijadikan bahan pakan karena masih mengandung protein sekitar 5% (Nugraheni, 2007). Dengan fermentasi menggunakan *Aspergillus niger*, kadar



protein yang semula 14,93 % meningkat menjadi 27,00 % ((Mulia *et al.*, 2014b). Ikan rucah merupakan ikan afkir yang sudah rusak dan tidak laku dijual. Namun, jika dijadikan bahan baku pakan ikan masih berpotensi, karena kadar protein pada tepung ikan rucah mencapai 31,32 % (Mulia *et al.*, 2013).

Selain masalah tingginya harga pakan, permasalahan yang sering ditemukan dalam budidaya lele dumbo adalah adanya penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Bakteri ini bersifat patogen oportunistik dan dapat menyerang berbagai jenis ikan air tawar seperti lele dumbo, gurami, patin, nila, ikan mas (dan koi), dan udang galah (Kamiso, 2004; Mulia *et al.*, 2004; Suryantinah *et al.*, 2005; Olga & Aisiah, 2007).

Alternatif yang tepat untuk mengendalikan penyakit MAS adalah dengan pemberian vaksin yang imunogenik. Penggunaan vaksin dari satu strain *A. hydrophila* (monovalen) memberikan hasil bervariasi. Mulia *et al.* (2006) menggunakan vaksin *debris* sel *A. hydrophila* pada lele dumbo, sintasan mencapai 70-100%. Olga & Aisiah (2007) menggunakan vaksin produk ekstraseluler *A. hydrophila* dengan dosis 2,5-10 µg pada ikan patin, memberikan tingkat perlindungan 44,87-92,31 %.

Untuk mengatasi permasalahan pakan dan penyakit, maka dibuatlah pakan bervaksin yang dapat dijadikan pengganti pakan pabrik dan menjadi *medicated feed* (pakan yang diarahkan sebagai media perantara dalam mencegah terjadinya serangan penyakit bagi hewan). Pakan bervaksin dicobakan dalam skala lapang di Desa Bangsa, Kecamatan Kebasen, Banyumas.

Penelitian ini bertujuan untuk mengaplikasikan pakan yang dibuat dari 3 limbah, yaitu bulu ayam, ampas tahu, dan ikan rucah, lalu ditambahkan vaksin (pakan bervaksin) dan diujikan secara lapang.

2. METODE

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian pembuatan pakan bervaksin dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Lab. Zoologi, UMP, sedangkan uji lapang dilaksanakan di Desa Buntu, Kecamatan Kemranjen, Kabupaten Banyumas pada bulan April-Juni 2015.

2.2 Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini, meliputi penggilingan tepung, panci, baskom, autoklaf, tampah, wadah plastik, cawan petri, jarum ose, drugalsky, bunsen, sprayer, tabung reaksi, Erlenmeyer, tabung konikal, tabung eppendorf, gelas ukur, mikropipet, timbangan analitik, hot plate, vortex, autoklaf, inkubator, dan *Laminar Air Flow* (LAF), kolam terpal plastik, spuit suntik, seser besar dan kecil, termometer, DO meter, dan pH meter.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan limbah sebagai bahan baku pakan,

yaitu bulu ayam, ampas tahu, ikan rucah, dan bahan perekat yaitu tepung terigu. Komposisi pakan yang digunakan adalah tepung bulu ayam fermentasi 25 %, ampas tahu fermentasi 50 %, dan tepung ikan rucah 25%, dengan bahan perekat tepung terigu 10%. Mikroorganisme yang digunakan adalah *B. licheniformis* B2560 dan *A. niger*. Bahan lain yang digunakan adalah media pertumbuhan bakteri, yaitu *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), *Potato Dextrose Agar* (PDA), akuades, dan alkohol.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Pembuatan Bahan Baku Pakan Ikan

2.3.1.1 Pembuatan Tepung Bulu Ayam

Pembuatan tepung bulu ayam dilakukan dengan cara bulu ayam dikumpulkan dan diambil dari RPA. Bulu ayam yang terkumpul dicuci hingga bersih dengan air mengalir. Hal tersebut dimaksudkan untuk memisahkan bulu ayam dari sisa-sisa darah maupun kotoran lainnya yang menempel. Bulu ayam yang sudah bersih dikeringkan pada sinar matahari hingga benar-benar kering. Bulu ayam yang sudah kering digiling menggunakan mesin giling. Dari 1000 g bulu ayam yang digunakan, setelah dilakukan pencucian, pemotongan tangkainya, penjemuran dan penggilingan, diperoleh sekitar 700 g tepung bulu ayam. Setelah diperoleh tepung bulu ayam, selanjutnya difermentasi menggunakan *Bacillus licheniformis* B2560.

2.3.1.2 Pembuatan Inokulum *B. licheniformis* B2560 dan *Bacillus subtilis*

Pembuatan inokulum dilakukan dalam media NA. *B. licheniformis* digoreskan dalam media NA yang dibuat miring pada tabung reaksi dan dibiarkan tumbuh pada suhu kamar selama 48 jam. Sebanyak 10 ml NB dimasukkan ke dalam tabung biakan bakteri *B. licheniformis* sehingga diperoleh suspensi sel bakteri yang disebut dengan inokulum (Desi, 2002).

2.3.1.3 Perbanyak Biakan Bakteri *B. licheniformis* B2560

Perbanyak *B. licheniformis* dilakukan dengan menginokulasi biakan pada media NA dan dibiarkan selama 48 jam. Isolat dipindahkan ke dalam 10 ml media NB dan diinkubasi pada pH 8,0 dan suhu 45°C selama 5 hari. Kultur yang dihasilkan dipindahkan seluruhnya ke dalam 90 ml media NB dan diinkubasi selama 48 jam. Seluruh kultur dipindahkan ke dalam 900 ml media NB dan diinkubasi kembali selama 48 jam. Hasil akhir dari proses ini diperoleh kultur bakteri *B. licheniformis* yang digunakan untuk proses fermentasi.

2.3.1.4 Menghitung Konsentrasi *Bacillus licheniformis* B2560

Konsentrasi *B. licheniformis* dihitung dengan cara pengenceran. Sebanyak 1 ml kultur diencerkan dalam beberapa kali tingkat pengenceran. Pengenceran

dilakukan dengan menggunakan larutan NaCl 0,1M steril. Pada tiga pengenceran terakhir yaitu 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} masing-masing diambil 1 ml dituangkan pada cawan petri steril. Medium NA ditambahkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan selama 2x24 jam. Penghitungan jumlah koloni dilakukan dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC).

2.3.2 Fermentasi Tepung Bulu Ayam

Proses fermentasi dilakukan dengan terlebih dahulu melakukan sterilisasi tepung bulu ayam pada 121°C , 1 kg/cm^2 selama 15 menit dengan tujuan untuk menghilangkan mikroorganisme ikutan atau mencegah terjadinya kontaminan oleh mikroorganisme lain (Desi, 2002). Sebanyak 2 gram tepung bulu ayam dicampurkan dengan masing-masing inokulum *B. licheniformis* sebanyak 5 ml, 10 ml, dan 15 ml ke dalam Erlenmeyer pada pH 8,5 dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 55°C selama 72 jam. Hasil dari proses fermentasi diperoleh tepung bulu ayam yang disebut dengan hidrolisat bulu ayam (HBA).

2.3.3 Fermentasi Ampas tahu dengan *Aspergillus niger*

2.3.3.1 Pembuatan Inokulum

A. niger dan pada medium PDA miring umur 5 x 24 jam masing-masing ditambahkan 40 ml aquades steril kemudian dikerok sampai semua spora kapang lepas dan divortek sehingga diperoleh suspensi. Suspensi digunakan untuk proses fermentasi medium ampas tahu, dan untuk penghitungan jumlah spora kapang menggunakan metode TPC. Untuk keperluan perhitungan tersebut dilakukan pengenceran suspensi kapang dari 10^{-1} sampai dengan 10^{-7} .

2.3.3.2 Menghitung kepadatan *Aspergillus niger*

Kepadatan *A. niger* dan *R. oligosporus* dapat dihitung dengan cara pengenceran. Sebanyak 1 ml kultur diencerkan dalam beberapa kali tingkat pengenceran (7 kali). Pengenceran dilakukan dengan menggunakan aquadest steril 9 ml. Sebanyak 1ml dari pengenceran 10^{-5} sampai 10^{-7} dituangkan pada cawan petri steril. Selanjutnya, ditambahkan medium PDA ke dalam cawan petri dan dibiarkan selama 48 jam kemudian dilakukan perhitungan jumlah koloni dengan menggunakan metode TPC.

2.3.3.3 Fermentasi Ampas Tahu

Media fermentasi dibuat dengan menyiapkan ampas tahu (± 600 gram), dicuci menggunakan air bersih, kemudian ampas tahu ditiriskan atau diperas sampai kadar airnya berkurang dan diremas agar tidak menggumpal, mengukus ampas tahu selama 30 menit, mendinginkan sampai suhu 35°C dan mempunyai pH 6.

Setiap 50 g dari ampas tahu dimasukkan kedalam cawan petri, kemudian diinokulasi dengan kapang *A. niger* sesuai perlakuan dan di inkubasi pada suhu ruang selama 2-3 hari.

2.3.4 Ikan rucah

Ikan rucah digiling terlebih dahulu menjadi tepung ikan, selanjutnya dianalisis kandungan nutrisinya.

2.3.5 Pembuatan Vaksin Polivalen *A. hydrophila*

2.3.5.1 Peningkatan Virulensi Bakteri *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* yang dibuat vaksin terdiri dari 3 strain, yaitu GPI-04, GL-01, dan GJ-01. Suspensi bakteri *A. hydrophila* pada media TSB (Merck) disuntikkan secara intramuskular dengan dosis 0,1 ml (10^{11} CFU/ml) pada 5 ekor lele dumbo berukuran 10-12 cm untuk meningkatkan virulensinya. Bakteri diisolasi kembali dari lele dumbo yang menunjukkan gejala penyakit MAS pada media GSP agar (Merck). Reinfeksi dan reisolasi dilakukan sebanyak 3 kali.

2.3.5.2 Pembuatan Vaksin *A. hydrophila* (Ag H)

Kultur bakteri dari media TSB ditambahkan formalin 2 % dan dishaker selama 24 jam. Selanjutnya disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Cairan yang berada di bagian atas pada tabung reaksi (*supernatan*) dibuang. Pencucian dengan PBS dan sentrifugasi dilakukan 3 kali. Selanjutnya, dilakukan uji viabilitas pada medium selektif *Aeromonas-Pseudomonas* (GSP, Merck).

2.3.5.3 Pembuatan Vaksin Polivalen *A. hydrophila*

Vaksin polivalen dibuat dengan mencampur sama banyak antigen isolat terpilih. Terlebih dahulu antigen terpilih diukur kepadatannya dengan spektrofotometer. Selanjutnya, masing-masing antigen diencerkan dan dicampurkan dengan perbandingan 1:1. Satu ml vaksin polivalen yang telah ditambah gliserol 0,5 % dengan kepadatan 10^{11} cfu/ml dimasukkan ke dalam botol ampul steril. Setelah itu dimasukkan ke dalam shell freezer (Labconco) agar vaksin membeku pada suhu -40°C . Selanjutnya vaksin dimasukkan ke dalam freeze dryer (Labconco) pada suhu -40 sampai -50°C . Selanjutnya, vaksin disimpan dalam refrigerator sampai digunakan.

2.3.6 Formulasi Pakan Ikan

Pakan ikan dibuat dari ketiga bahan baku, dengan formulasi yang telah ditentukan. Selain itu, untuk merekatkan bahan baku agar menjadi pakan yang kompak, stabil di air, memiliki daya apung yang lama, maka akan ditambahkan binder (bahan perekat) hasil penelitian tahun kedua, yaitu menggunakan tepung terigu 10%.



2.3.7 Pembuatan Pakan Bervaksin

Pakan yang telah dibuat selanjutnya ditambahkan dengan vaksin polivalen *A. hydrophila* sehingga menjadi pakan bervaksin.

2.3.8 Aplikasi Skala Lapangan Pakan Bervaksin

Aplikasi skala lapangan pakan bervaksin dilakukan pada lele dumbo. Untuk perlakuan pakan yang diberi vaksin, pemberian pakan bervaksin dilakukan selama 10 hari dan 15 hari, setelah itu dilanjutkan dengan pemberian pakan tanpa vaksin sampai 2 bulan (8 minggu). Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 5 kali ulangan, P1 = pemberian pakan bervaksin 10 hari; P2 = pemberian pakan bervaksin 15 hari; P3 = pemberian pakan non vaksin (kontrol)

Untuk P1 dan P2, setelah pemberian pakan bervaksin sesuai waktunya, selanjutnya pakan yang diberikan adalah pakan non vaksin sampai pemeliharaan 2 bulan (8 minggu). Pakan yang diberikan sebanyak 5 % dari bobot ikan/hari.

2.3.9 Parameter Yang Diamati

Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini adalah respons imun berupa titer antibodi, pertambahan berat dan panjang, serta sintasan. Parameter pendukung yang diamati adalah parameter kualitas air, meliputi suhu, pH, dan O₂ terlarut.

2.3.9.1 Parameter Utama

Titer Antibodi

Titer antibodi diamati dengan metode Anderson (1974) dan dilakukan 9 kali, yaitu sebelum ikan divaksinasi (minggu ke-0), minggu ke-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan 8. Pengukuran titer antibodi dilakukan dengan cara sebagai berikut : darah ikan diambil dengan jarum suntik (sputit) steril melalui *arteri caudalis*, kemudian darah ditampung dalam tabung eppendorf, didiamkan dalam suhu kamar selama 1 jam, kemudian didiamkan dalam refrigerator pada suhu 4°C selama 18-24 jam. Adanya endapan antigen-antibodi pada mikrotiter plate diamati dengan cara sebagai berikut:

- (1). sumur ke-2 sampai dengan sumur ke-12 diisi dengan 25 µl PBS;
- (2). sumur ke-1 sampai ke-2 diisi dengan 25 µl serum;
- (3). serial pengenceran dilakukan dengan cara mengambil 25 µl larutan dengan menggunakan mikropipet dari sumur ke-2 sampai ke-11;
- (4). sumur ke-1 sampai ke-12 ditambahkan 25 µl suspensi bakteri *A. hydrophila* (10⁸ CFU/ml) yang telah dimatikan dengan formalin;
- (5). lempeng mikrotiter plate ditutup kemudian digoyang-goyangkan secara perlahan selama 3 menit dengan gerakan memutar. Lalu didiamkan pada suhu kamar selama 18-24 jam;
- (6). cara menghitung titer antibodi : ke-12 sumur pada mikrotiter plate diamati. Sumur paling kiri adalah kontrol positif, sedangkan sumur yang paling kanan adalah kontrol negatif. Terbentuknya titer antibodi ditandai dengan

terjadinya aglutinasi antara antigen dengan antibodi yang tampak dari munculnya lapisan keruh seperti awan dalam sumur mikrotiter plate, sedangkan pada sumur yang tidak terbentuk antibodi ditandai dengan dot pada dasar sumur yang menunjukkan adanya antigen yang mengendap (tidak terjadi aglutinasi). Perhitungan titer antibodi dimulai dari 2¹ sampai 2¹⁰ (dari sumur ke-2 sampai 11). Sebagai contoh apabila terjadi aglutinasi sampai sumur ke-6, maka titer antibodi yang terbentuk adalah 2⁵. Selanjutnya, angka tersebut ditransformasikan ke dalam logaritma (data log 2) agar bisa dilakukan analisis data.

Pertambahan Berat

Pertambahan berat menurut Zonneveld *et al.* (1991), dihitung dengan rumus :

$$G = W_t - W_o$$

Keterangan :

W_o : Berat rata-rata lobster pada awal penelitian (g)

W_t : Berat rata-rata lobster pada akhir penelitian (g)

Pertambahan Panjang Ikan

Pertambahan panjang ikan menurut Zonneveld *et al.* (1991) dihitung dengan rumus :

$$L = L_t - L_o$$

Keterangan :

L_o : Panjang rata-rata ikan pada awal penelitian (cm)

L_t : Panjang rata-rata ikan pada akhir penelitian (cm)

Sintasan

Pengamatan dilakukan secara visual dengan melihat dan menghitung ikan yang hidup pada setiap unit perlakuan, dan diamati setiap hari. Nilai sintasan dihitung berdasarkan Zonneveld *et al.* (1991), yaitu :

$$S = \frac{N_t}{N_o} \times 100 \%$$

Keterangan :

S = sintasan

N_t = jumlah ikan yang hidup pada waktu t/akhir penelitian (ekor)

N_o = jumlah ikan yang hidup pada awal penelitian (ekor)

2.3.9.2 Parameter Pendukung

Pengamatan kualitas air meliputi suhu air, pH, dan O₂ terlarut (*Dissolved Oxygen*=DO) dilakukan setiap hari.

2.3.10 Analisis Data

Data pertambahan berat dan panjang ikan, sintasan, dan produksi per kolam dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam (*Analysis of Variance*/ANOVA) untuk mengetahui pengaruh masing-masing perlakuan. Apabila data yang telah dianalisis sidik ragam terdapat perbedaan yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf uji 5%.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Titer Antibodi Ikan Lele Dumbo

Efektivitas pakan bervaksin *A. hydrophila*, salah satunya dapat dilihat dari produksi titer antibodi yang dihasilkan setelah lele dumbo diberi pakan bervaksin.

Titer antibodi pada minggu ke-0 masing-masing perlakuan sama, yaitu 2^2 (Tabel 1), hal ini dikarenakan ikan belum diberi pakan bervaksin. Titer antibodi yang terbentuk pada awal penelitian merupakan respons alamiah tubuh ikan terhadap kondisi lingkungan perairan tempat hidupnya.

Tabel 1. Titer Antibodi Lele Dumbo yang Dipelihara Di Desa Buntu, Banyumas

No	Perlakuan/ulangan		Titer Antibodi Pada Minggu Ke-n										
			0	1	2	3	4	5	6	7	8		
1	P1	ul	1	2^2	2^3	2^4	2^4	2^4	2^4	2^4	2^3	2^3	2^2
			2	2^2	2^2	2^3	2^4	2^4	2^4	2^4	2^4	2^3	2^3
			3	2^2	2^3	2^3	2^3	2^4	2^4	2^3	2^3	2^4	
			4	2^2	2^3	2^4	2^3	2^4	2^4	2^4	2^3	2^3	
			5	2^2	2^2	2^3	2^3	2^3	2^3	2^3	2^3	2^3	
	Rata-rata	2^{2a}	$2^{2,67a}$	$2^{3,49a}$	$2^{3,49a}$	$2^{3,85a}$	$2^{3,85a}$	$2^{3,49a}$	2^{3a}	2^{3a}			
2	P2	ul	1	2^2	2^3	2^4	2^4	2^4	2^4	2^4	2^3	2^3	
			2	2^2	2^3	2^3	2^5	2^5	2^4	2^4	2^4	2^3	
			3	2^2	2^2	2^4	2^4	2^5	2^5	2^4	2^3	2^3	
			4	2^2	2^3	2^4	2^4	2^4	2^4	2^4	2^4	2^4	
			5	2^2	2^3	2^3	2^3	2^3	2^3	2^3	2^3	2^3	
	Rata-rata	2^{2a}	$2^{2,85b}$	$2^{3,68b}$	$2^{4,14b}$	$2^{4,38b}$	2^{4b}	$2^{3,85b}$	$2^{3,49b}$	$2^{3,26b}$			
3	P3	ul	1	2^2	2^1	2^2	2^2	2^2	2^2	2^2	2^2	2^2	
			2	2^2	2^1	2^2	2^2	2^2	2^2	2^2	2^2	2^2	
			3	2^2	2^1	2^2	2^3	2^2	2^2	2^1	2^1	2^1	
			4	2^2	2^2	2^2	2^2	2^2	2^2	2^2	2^2	2^2	
			5	2^2	2^1	2^2	2^2	2^3	2^3	2^3	2^2	2^2	
	Rata-rata	2^{2a}	$2^{1,26b}$	2^{2b}	$2^{2,26b}$	$2^{2,26b}$	$2^{2,26b}$	2^{2b}	$2^{1,85b}$	$2^{1,85b}$			

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti huruf superscript yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT dengan taraf uji 5%, P1 = pemberian pakan bervaksin 10 hari; P2 = pemberian pakan bervaksin 15 hari; P3 = pemberian pakan non vaksin (kontrol).



Produksi titer antibodi mulai meningkat pada minggu ke 1, yaitu satu minggu setelah pemberian pakan bervaksin dan berbeda nyata ($P > 0,05$) antara perlakuan yang diberi pakan bervaksin dengan kontrol (pakan non vaksin). Titer antibodi P1 (pemberian pakan bervaksin 10 hari) adalah $2^{2,67}$, P2 (pemberian pakan bervaksin 15 hari) adalah $2^{2,85}$, sedangkan P3 (pemberian pakan non vaksin/control) adalah $2^{1,26}$. Terjadi sedikit penurunan produksi antibodi pada ikan kontrol, diduga karena kondisi ikannya ataupun pengaruh lingkungannya.

Pada minggu ke-2, terjadi peningkatan titer antibodi pada semua perlakuan pakan bervaksin dibandingkan kontrol. Titer antibodi P1 adalah $2^{3,49}$, P2 adalah $2^{3,68}$, sedangkan P3 adalah 2^2 . Peningkatan produksi antibodi juga terjadi pada minggu ke-3, P2 meningkat menjadi $2^{4,14}$, P1 tetap seperti minggu sebelumnya, yaitu $2^{3,49}$, sedangkan P3 yaitu $2^{2,26}$. Pada minggu ke-4, produksi antibodi masih meningkat untuk perlakuan pakan bervaksin dan berbeda nyata dengan kontrol. Titer antibodi P1 adalah $2^{3,85}$, P2 adalah $2^{4,38}$, sedangkan P3 adalah $2^{2,26}$. Pada minggu ke-5, produksi antibodi P1 tetap, yaitu $2^{3,85}$, sedangkan P2 sedikit menurun menjadi 2^4 , tetapi tetap berbeda nyata dengan kontrol, yaitu $2^{2,26}$. Pada minggu ke-6, semua perlakuan mengalami penurunan produksi antibodi, dan perlakuan pakan bervaksin berbeda nyata dengan kontrol, P1 menurun menjadi $2^{3,49}$, P2 menjadi $2^{3,85}$, sedangkan P3 menjadi 2^2 . Penurunan titer antibodi juga terjadi pada minggu ke-7, P1 menjadi 2^3 , P2 menjadi $2^{3,49}$, sedangkan P3 menjadi $2^{1,85}$. Pada minggu terakhir (ke-8), titer antibodi P1 tetap seperti minggu ke-7, yaitu 2^3 , P2 sedikit menurun menjadi $2^{3,26}$, sedangkan P3 tetap, yaitu $2^{1,85}$.

Vaksinasi merupakan suatu cara pemberian antigen secara sengaja agar ikan memproduksi antibodi terhadap suatu bibit penyakit atau patogen tertentu, sedangkan vaksin merupakan suatu antigen yang berasal dari jasad patogen yang telah dilemahkan atau dimatikan (Mulia, 2007). Antibodi sangat diperlukan untuk menghadapi serangan dari bibit penyakit yang masuk ke dalam tubuh. Antigen yang digunakan dalam penelitian ini adalah antigen *A. hydrophila* berupa antigen H, yaitu *whole cell* yang dilemahkan dengan formalin, mengandung flagela dan protein yang memungkinkan adanya reaksi kuat dengan antibodi (Kamiso, 1990). 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.

Vaksin yang digunakan terdiri atas 3 strain *A. hydrophila*, yaitu strain GPI-04, GL-01, dan GJ-01. Ketiga strain *A. hydrophila* dicampurkan sehingga menjadi vaksin polivalen. Vaksin polivalen adalah

vaksin yang dibuat dari dua atau lebih strain dari spesies mikroorganisme atau virus yang sama, atau dapat juga diistilahkan vaksin multivalen (Mulia, 2012). Hasil penelitian Lund *et al.* (2002) menunjukkan bahwa vaksin multivalen *Aeromonas salmonicida* menghasilkan tingkat efikasi yang lebih tinggi daripada vaksin monovalen pada vaksinasi ikan spotted wolfish (*Anarchicas minor* O.) serta memberikan tingkat perlindungan yang lebih baik.

Vaksinasi dapat diberikan dengan berbagai cara, yaitu suntikan (Mulia *et al.*, 2004; Mulia & Purbomartono, 2007), oral (dengan memberikan langsung ke dalam mulut ikan menggunakan alat khusus) (Mulia *et al.*, 2006), rendaman (Mulia *et al.*, 2008) maupun pakan. Dalam penelitian ini, vaksin polivalen yang dibuat selanjutnya dicampurkan dengan pakan dari 3 limbah, yaitu bulu ayam, ampas tahu, dan ikan rucah yang telah diolah, sehingga menjadi pakan bervaksin. Faktor yang mempengaruhi keberhasilan vaksinasi pada ikan adalah temperatur, umur, berat ikan, faktor pemeliharaan, sifat vaksin, dan cara pemberian vaksin (Mulia, 2012).

Pemberian vaksin pada pakan (pakan bervaksin) yang diberikan pada lele dumbo mampu meningkatkan produksi titer antibodi. Satu minggu setelah pemberian pakan bervaksin, terjadi peningkatan titer antibodi. Hal ini sebagai respons imun tubuh yang terbentuk terhadap antigen yang diberikan. Nelson *et al.* (1985) menyatakan bahwa respons imun yang terbentuk oleh cara vaksinasi melalui pakan diduga bukan secara sistemik, melainkan karena induksi respons mukosal. Pernyataan ini didasarkan pada hasil penelitian yang menunjukkan bahwa tidak ditemukannya vaksin dalam jaringan internal ikan maupun dalam organ tubuh, kecuali ditemukan pada usus. Anderson (1974) menyatakan bahwa respons imun terbentuk karena adanya antigen yang sampai ke dalam rongga usus yang merangsang limfosit dalam jaringan usus untuk memproduksi antibodi.

Peningkatan titer antibodi antara perlakuan P1 dan P2 relatif sama, hal ini dikarenakan pakan bervaksin yang diberikan sama, baik jumlah (5 % /bb/ekor/hari) maupun dosis vaksin dalam pakan, yaitu 10 ml/100 g pakan ikan. Perbedaan jangka waktu pemberian pakan bervaksin, yaitu 10 hari (P1) dan 15 hari (P2), untuk mengkaji lebih dalam tentang efektivitas waktu pemberian pakan dengan respons imun yang terbentuk.

Sampai minggu ke-5, secara umum, perlakuan pakan bervaksin mengalami peningkatan. Hal ini disebabkan karena pengaruh antigen yang berhasil masuk ke dalam tubuh tetap dapat merangsang pembentukan antibodi. Pada minggu ke 6 sampai 8, titer antibodi cenderung menurun, tetapi perlakuan pakan bervaksin tetap lebih tinggi dibandingkan kontrol. Penurunan ini diduga disebabkan karena



keberadaan antigen di dalam tubuh semakin berkurang, sehingga kemampuan merangsang produksi antibodi menjadi semakin rendah.

Pemberian pakan bervaksin secara umum dapat merangsang terbentuknya antibodi dalam tubuh ikan. Namun, apabila dibandingkan dengan penelitian Mulia *et al.* (2006), titer antibodi yang terbentuk dalam penelitian ini lebih rendah. Mulia *et al.* (2006), menggunakan vaksinasi dengan cara oral (vaksin diberikan langsung menggunakan alat khusus yang didesain agar dapat langsung masuk ke dalam mulut ikan) dan *booster* suntik, titer antibodi yang dihasilkan mencapai 2^{11} . Perbedaan ini diduga karena cara pemberian vaksin yang berbeda. Vaksin yang dicampur dalam pakan, diduga kurang terserap dengan baik dalam tubuh, karena harus melalui proses pencernaan. Selain itu, vaksin dalam pakan memungkinkan terlarut dalam air sebelum dimakan ikan, meskipun tidak seluruhnya.

3.2 Pertambahan Berat dan Panjang Ikan Lele dumbo

Penelitian dilaksanakan selama 8 minggu, dan selama itu pula terjadi pertambahan berat maupun panjang setiap ikannya. Namun, apabila dibandingkan antar kelompok, hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pertambahan berat dan panjang ikan untuk setiap perlakuan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) (Tabel 2). Hal ini dikarenakan bahan pakan yang digunakan sama, baik jenis maupun komposisinya. Pakan ikan dibuat dari 3 limbah dengan komposisi 25 % bulu ayam, 50 % ampas tahu, dan 25% ikan rucah. Bahan dasar untuk membuat pakan bervaksin dan non vaksin tidak berbeda, sehingga kandungan nutrisinya pun sama. Pakan yang dibuat memiliki kualitas gizi yang baik, yaitu kadar protein 37,98 %, kadar lemak 9,67%, serat kasar 4,02%, kadar abu 13,04%, dan kadar air 13,31 %. Kandungan gizi seperti itu sudah termasuk baik mengingat umumnya ikan membutuhkan pakan dengan kandungan protein 20-25 % (Handajani & Widodo, 2010). Peran protein pakan dalam tubuh adalah sebagai bahan pembangun dan pengganti tenunan tubuh yang aus atau terpakai, bahan baku pembuatan enzim, hormon, dan zat kekebalan, mengatur lalu lintas cairan tubuh dan zat yang larut di dalamnya ke dalam dan ke luar sel, serta menyediakan energi (Sunarso & Christiyanto, 2009).

Tabel 2. Data Pertambahan Berat dan Panjang Ikan Lele dumbo

Perlakuan	Pertambahan Berat \pm Standar Deviasi (g)	Pertambahan Panjang \pm Standar Deviasi (g)
-----------	---	---

P1	17,74 \pm 3,56 ^a	4,72 \pm 1,39 ^a
P2	21,02 \pm 4,77 ^a	5,00 \pm 0,54 ^a
P3	17,18 \pm 3,00 ^a	4,60 \pm 1,20 ^a

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti huruf superscript yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT dengan taraf uji 5%, P1 = pemberian pakan bervaksin 10 hari; P2 = pemberian pakan bervaksin 15 hari; P3 = pemberian pakan non vaksin (kontrol).

Protein merupakan nutrisi esensial untuk mempertahankan kehidupan dan memacu pertumbuhan (Suhenda *et al.*, 2003). Pertumbuhan hanya dapat terjadi jika kebutuhan energi untuk pemeliharaan proses-proses hidup dan fungsi-fungsi lain sudah terpenuhi. Jadi pakan harus mempunyai rasio energi protein tertentu yang dapat menyediakan energi non protein dalam jumlah cukup supaya protein pakan sebagian besar digunakan untuk pertumbuhan (Suryanti *et al.*, 2003).

Untuk menunjang pertumbuhannya, ikan membutuhkan campuran yang seimbang antara asam amino esensial dan non esensial (Gilangsari, 2000). Selain itu, lemak juga dibutuhkan sebagai sumber energi selain protein. Kadar lemak dalam pakan mencapai 9,67%, sehingga cukup untuk pertumbuhan lele dumbo. Pakan ikan yang baik memiliki kadar lemak sekitar 4-18% (Halver & Hardy, 2002).

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pakan bervaksin dapat meningkatkan produksi titer antibodi ($P < 0,05$) dibandingkan kontrol. Penggunaan pakan buatan dari bulu ayam, ampas tahu, dan ikan rucah dapat meningkatkan pertumbuhan berat dan panjang ikan. Pakan yang ditambahkan vaksin (pakan bervaksin) dapat diaplikasikan secara lapang.

Saran dari penelitian ini, perlu dicobakan penggunaan bahan atau limbah lain untuk dijadikan campuran bahan pakan, untuk mengatasi permasalahan limbah dan sebagai diversifikasi produk pakan ikan. Pemberian pakan bervaksin juga dapat dicobakan pada ikan air tawar lainnya, seperti patin, gurami, nila dan lain-lain.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi yang dibiayai oleh Ditjen Dikti. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada Ditjen Dikti yang telah membiayai penelitian ini.



6. DAFTAR PUSTAKA

- 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 & E.R. Cruz-Lacierda (eds). Aquaculture Departement Southeast Asian Fisheries Development Center, Philippines.
- Anderson, D.P. (1974). Fish Immunology, In *Diseases of Fishes*, buku ke-4, Snieszko, S.F. & Axelrod, H.R. (ed.). T.F.H. Publications, Ltd. 239 p.
- Desi, M. (2002). *Aktivitas keratinase Bacillus licheniformis dalam memecah keratin bulu ayam*. Skripsi tidak diterbitkan. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Kamiso, H. N. (1990). *Vaksinasi Penyakit Bakterial pada Ikan*. PAU Bioteknologi UGM. Yogyakarta.
- Kamiso, H.N. (2004). Status Penyakit Ikan dan Pengendaliannya di Indonesia. *Prosiding Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang IV*, Purwokerto, 18-19 Mei 2004.
- Lund, V., Arnesen, J.A. & Eggset, G. (2002). Vaccine development for atypical furunculosis in spotted wolffish *Anarchicas minor* O.: comparison of efficacy of vaccine containing different strains of atypical *Aeromonas salmonicida*. *Aquaculture*, 204: 33-44.
- Melati, I., Zahril, I. A & Titin, K. (2010). *Pemanfaatan ampas tahu terfermentasi sebagai substitusi tepung kedelai dalam formulasi pakan ikan patin*. Unpublished Laporan Penelitian. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar. Bogor.
- Mulia, D.S., Pratiwi, R., & Triyanto. (2004). Efikasi vaksin debris sel *Aeromonas hydrophila* secara suntik dengan variasi cara booster pada lele dumbo (*Clarias gariepinus* Burchell). *Berkala Ilmiah Biologi*, 3 (3): 145-156.
- Handajani & Widodo. (2010). *Nutrisi Ikan*. Malang: UMM Press.
- Halver, J.E & R.W. Hardy. (2002). *Fish Nutrition*. Third Edition. Amsterdam : Elsevier.B.F.
- Joshi. S. G., M. M. Tejashwini, N. Revati, R. Sridevi, & D. Roma. (2007). *Isolation, Identification and Characterization of Feather Degrading Bacterium*. Department of Biotechnology: India.
- Mulia, D.S., Pratiwi, R., & Triyanto. (2006). Pengaruh cara booster terhadap efikasi vaksinasi oral dengan debris sel *Aeromonas hydrophila* pada lele dumbo (*Clarias* sp.). *Jurnal Perikanan UGM (GMU J. Fish. Sci)*, 8(1), 96-104.
- Mulia, D.S. (2007). Keefektivan vaksin *Aeromonas hydrophila* untuk mengendalikan penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) pada gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.). *Jurnal Pembangunan Pedesaan*, 7 (1): 43-52.
- Mulia, D.S. & Purbomartono, C. (2007). Perbandingan efikasi vaksin produk intra dan ekstraseluler *Aeromonas hydrophila* untuk menanggulangi penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) pada lele dumbo (*Clarias* sp.). *Jurnal Perikanan UGM (GMU J. Fish. Sci)*, 9(2): 173-181.
- Mulia, D.S., Purbomartono, C., Isnansetyo, A. & Murwantoko. (2008). *Penggunaan vaksin polivalen Aeromonas hydrophila untuk pengendalian penyakit MAS (Motile Aeromonas Septicemia) pada gurami (Osphronemus gouramy Lac.)*. Prosiding Seminar Nasional Tahunan V Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan, UGM, Yogyakarta, Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada.
- Mulia, D.S., Purbomartono, C., & Wulandari, J.R. (2009). Optimasi dosis vaksin protein sitoplasma sel *Aeromonas hydrophila* untuk pengendalian Penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) pada gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.). *Sains Akuatik*, 12(1): 27-38.
- Mulia, D.S. & Purbomartono, C. (2010). *Pengembangan vaksin polivalen plus Aeromonas hydrophila (penambahan vitamin C dan adjuvant) untuk mengendalikan penyakit MAS (Motile Aeromonas Septicemia) pada lele dumbo (Clarias gariepinus)*. Unpublished Laporan Hibah Bersaing Tahun ke-2. Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Mulia, D.S. (2012). *Vaksinasi Lele Dumbo*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Mulia, D.S., Maryanto, H., & Purbomartono, C. (2013). *Pengembangan Pakan Bervaksin (dengan Memanfaatkan Limbah Lokal Sebagai Bahan Baku dan Vaksin Aeromonas hydrophila) Pada Budidaya Lele Dumbo*. Unpublished Laporan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi Tahun ke-1. Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Purwokerto.
- Mulia, D.S., Nartanti, Y., Maryanto, H., & Purbomartono, C. (2014). Fermentasi tepung bulu ayam dengan *Bacillus Licheniformis* B 2560 untuk meningkatkan kualitas bahan baku pakan ikan. In Y. Rinanto (Chair), *Biologi, Sains, Lingkungan, dan Pembelajarannya*. Seminar Nasional XI, Prodi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Mulia, D.S., Mudah, M., Maryanto, H., & Purbomartono, C. (2014) Fermentasi ampas tahu dengan *Aspergillus Niger* untuk meningkatkan kualitas bahan baku pakan ikan. *Pengembangan Sumberdaya Menuju Masyarakat Madani*

- Berkearifan Lokal*. Seminar Nasional LPPM Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Nasution, E.Z. (2006). Studi Pembuatan Pakan Ikan dari Campuran Ampas Tahu, Ampas Ikan, Darah Sapi Potong, dan Daun Keladi yang Disesuaikan dengan Standar Mutu Pakan Ikan. *Jurnal Sains Kimia*, 10 (1), 40-45.
- Nelson, J.S., Rohovec, J.S. & Fryer, J.L. (1985). Tissue location of *Vibrio bacterin* delivered by intraperitoneal injection, immersion, and oral routes to *Salmo gairdneri*. *Fish Pathology*. 19(4): 263-269.
- Nugraheni, M. (2007). Pengaruh ekstrak kecambah kacang hijau sebagai sumber nitrogen pada pemanfaatan limbah tahu terhadap karakteristik nata de soya mentah dan limbahnya. *Jurnal Teknologi dan Kejuruan*. Vol. 30. (2)
- Olga & S. Aisiah. (2007). Vaksin protein produk ekstraseluler *Aeromonas hydrophila* untuk meningkatkan tanggap kebal patin (*Pangasius hypophthalmus*) terhadap *Motile Aeromonas Septicemia* (Mas). *Sains Akuatik*, 10(2): 105-110.
- Subowo. 1993. *Imunobiologi*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Suhenda, N., Setijaningsih, L., & Suryanti, Y. (2003). penentuan rasio antara kadar karbohidrat dan lemak pada pakan benih ikan patin jambal (*Pangasius djambal*). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 9 (1).
- Sunarso & Christiyanto. (2009). *Manajemen pakan*. <http://nutrisi.awardspace.com>.
- Supriyati, T. Purwadinata, T., & Kompiang, I.P. (2000). Produksi mikroba terseleksi pemecah keratin pada bulu ayam skala laboratorium. *Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner 2000*. Balai Penelitian Ternak. Bogor.
- Suryanti, Y., Priyadi, A., & Mundriyanto, H. (2003). Pengaruh rasio energi dan protein yang berbeda terhadap efisiensi pemanfaatan protein pada benih baung (*Mystus nemurus C.V.*). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 9 (1): 31-36.
- Suryantinah, R.K. Rini, & Olga. (2005). *Optimasi dosis vaksin debris sel Aeromonas hydrophila terhadap pengendalian penyakit MAS (Motile Aeromonas Septicemia) pada ikan nila (Oreochromis niloticus)*. Prosiding Seminar Nasional Tahunan Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan. Yogyakarta. P. 108-114.
- Zonneveld, E.A. Huisman & J.H. Boon. (1991). *Prinsip-prinsip Budidaya Ikan*. Jakarta: Gramedia.

