

EFEKTIVITAS VAKSIN DARI BAKTERI *Mycobacterium fortuitum* YANG DIINAKTIVASI DENGAN PEMANASAN UNTUK PENCEGAHAN PENYAKIT MYCOBACTERIOSIS PADA IKAN GURAMI (*Osphronemus gouramy*).

Raden Budi Setiawan*, Dulm'iad Iriana** dan Rosidah**.

*) Alumni Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unpad

**) Staf Pengajar Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unpad

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk mengetahui dosis yang efektif dalam menginaktivasi *Mycobacterium fortuitum*, status keberadaan *Mycobacterium fortuitum* pada ikan gurami setelah masa induksi vaksin dan uji tantang dari gejala klinis serta mengetahui tingkat kelangsungan hidup ikan gurami setelah diuji tantang. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental rancangan acak lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan tersebut adalah A (vaksin dengan kepadatan 1011 cfu), B (vaksin dengan kepadatan 108 cfu), C (vaksin dengan kepadatan 105 cfu), D (vaksin dengan kepadatan 102 cfu) dan E (kontrol/tanpa pemberian vaksin). Parameter yang diamati adalah tingkat kelangsungan hidup, kelangsungan hidup relatif, titer antibodi, indeks fagositik, diferensial leukosit dan gejala klinis. Data hasil tingkat kelangsungan hidup ikan gurami dianalisis dengan menggunakan uji F dengan taraf nyata 5%. Sedangkan hasil diagnosa kelangsungan hidup relatif, titer antibodi, indeks fagositosis, diferensial leukosit dan gejala klinis dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa vaksin dari bakteri *Mycobacterium fortuitum* kepadatan 102 cfu yang diinaktivasi dengan heat kill merupakan kepadatan yang paling efektif dan efisien dalam memicu imunitas gurami terhadap bakteri *Mycobacterium fortuitum* dengan nilai kelangsungan hidup 80%, kelangsungan hidup relatif 71,43%.

Kata kunci : fortuitum, gurami, mycobacterium, pemanasan, vaksin

ABSTRACT

EFFECTIVENESS OF BACTERIAL VACCINES INACTIVATED *Mycobacterium fortuitum* WITH HEAT FOR THE PREVENTION OF MYCOBACTERIOSIS DISEASE IN GIANT GOURAMY

The aims of this research were to find out the effective dosis of inactivated *Mycobacterium fortuitum*, to find out status of *Mycobacterium fortuitum* on the giant gouramy after induction and during challeng from clinical signs, to find out survival rate of the gourami which have been given vaccine after challenge. The method used in this study was an experimental method with completely randomized design (CRD) with five treatments and three replications. The treatment was A (density of 1011 cfu vaccine), B (vaccine with the density of 108 cfu), C (vaccine with a density of 105 cfu), D (vaccines with a density of 102 cfu) and E (control / no vaccine). The parameters observed were survival rate, relative survival, antibody titer, phagocytic index, differential leukocyte count and clinical symptoms. Data from carp survival rates were analyzed using the F test with the signifiance level 5%. While the results of diagnosis relative survival, antibody titers, phagocytosis index, differential leukocyte count and clinical symptoms were analyzed descriptively. The results showed that the vaccine from the bacterium *Mycobacterium fortuitum* 102 cfu density inactivated by heat kill was the most effective and efficient density in triggering immunity to wards pathogenic bacteria *Mycobacterium fortuitum* with a value of 80% survival, relative survival of 71.43.

Keywords : fortuitum, giant, gouramy, heat, killed, mycobacterium, vaccine

PENDAHULUAN

Ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) merupakan ikan air tawar yang sudah lama dikenal masyarakat dan banyak dibudidayakan. Keunggulan ikan gurami bagi para petani antara lain, ikan dapat berkembangbiak secara alami, mudah dipelihara, dan hidup di air tergenang (Sigantang dan Sarwono 2005)

Ikan gurami merupakan salah satu komoditas unggulan pada budidaya air tawar, sehingga banyak dibudidayakan oleh para petani ikan pada saat ini. Salah satu masalah utama yang menghambat dalam budidaya ikan gurami adalah ketersediaan stok di pasaran. Budidaya intensif dilakukan dengan kepadatan ikan yang tinggi dan jumlah pakan yang diberikan juga tinggi, cenderung pakan berlebih. Kondisi ini, memicu terjadinya penyuburan perairan akibat sisa pakan dan sisa metabolisme ikan, sehingga memicu timbulnya berbagai penyakit pada ikan yang dapat menurunkan produksi ikan. Penyakit yang dapat menyerang ikan gurami diantaranya adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Pada beberapa komoditas perikanan budidaya sering terjadi serangan penyakit bakterial yang dapat mematikan benih dan induk ikan hingga 50-100% (Supriyadi dkk 2003).

Memelihara ikan gurami tidak terlepas dari gangguan adanya hama dan penyakit, diantaranya penyakit yang disebabkan oleh bakteri pathogen *Mycobacterium fortuitum* yaitu penyebab penyakit Mycobacteriosis. Penyakit ini tersebar di seluruh dunia. Seluruh spesies ikan dapat terjangkit penyakit ini. Beberapa spesies yang sangat rentan terhadap mikobakteriosis adalah gurami, neon tetra, discus dan jenis ikan yang memiliki sistem pernafasan labirin (Nigrelli dan Vogel dalam Noga 1995).

Mycobacteriosis merupakan jenis penyakit kronis. Butuh waktu beberapa tahun untuk menunjukkan gejala klinis yang tampak. Beberapa ciri untuk mengetahui ikan terserang penyakit ini diantaranya ikan mengalami gejala kelesuan, kurang nafsu makan, rusak sirip, *exophthalmia*, kekurusan, peradangan dan uselrasi kulit, edema, peritonitis dan atau terdapat benjolan pada otot yang dapat merusak bentuk tubuh ikan.

Secara makroskopis, ikan yang terinfeksi penyakit ini menunjukkan gejala adanya benjolan berwarna abu-abu atau putih pada ginjal, hati, jantung atau limpa. Pada beberapa kasus terjadi perubahan bentuk tulang. Diagnosis biasanya berdasarkan gejala klinis dan adanya bakteri asam-cepat pada jaringan tubuh ikan (Noga 1995).

Penggunaan vaksin merupakan salah satu alternatif untuk mengendalikan infeksi *Mycobacterium fortuitum* karena vaksinasi dapat meningkatkan kekebalan tubuh ikan terhadap serangan penyakit baik kekebalan spesifik maupun non spesifik yang pada akhirnya dapat meningkatkan kelangsungan hidup ikan. Vaksinasi dirasakan sangat efisien karena dengan cara ini dapat diperoleh kekebalan hanya dengan sekali atau dua kali pemberian vaksin sampai ikan dapat dipanen. Keuntungan lain dari vaksinasi adalah tidak adanya efek samping pada ikan, berbeda dengan penggunaan antibiotik yang mana dapat berdampak negatif pada ikan (Supriyadi dan Rukyani 1990).

Vaksinasi dapat dilakukan melalui penyuntikan, perendaman, penyemprotan dan melalui pakan. Penelitian tentang vaksin mikobakteriosis yang diaktivasi dengan pemanasan pada ikan gurami merupakan penelitian yang pertama di Indonesia, sehingga informasi mengenai efek vaksin terhadap ikan masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kepadatan bakteri *Mycobacterium fortuitum* yang efektif dijadikan vaksin, dalam menanggulangi gejala Mycobakteriosis pada ikan gurami. Sehingga dapat meningkatkan kelangsungan hidup ikan gurami tersebut.

Penanggulangan penyakit bakteri pada ikan dengan penggunaan zat kimia atau antibiotik secara terus-menerus menimbulkan masalah baru yaitu munculnya strain-strain bakteri yang memiliki resistensi terhadap jenis antibiotik dan masalah pencemaran lingkungan (Grisez dan Tan 2005). Salah satu solusi untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan pemberian vaksin secara intensif pada budidaya ikan (Supriyadi, 1988)

Pada saat ini pengobatan untuk penyakit mycobacteriosis masih belum ditemukan, pencegahan penyakit ini di

Indonesia mulai di usahakan diantaranya di Balai Riset Budidaya Air Tawar Bogor. Usaha yang dilakukan adalah dengan penggunaan vaksin. Menurut Ellis (1988) vaksinasi adalah memasukan antigen yang telah dilemahkan virulensnya untuk mengenali invasi awal tanpa menimbulkan penyakit namun diharapkan dapat merangsang kekebalan tubuh.

Mekanisme kerja vaksin adalah mempengaruhi respon imun (kebal) yaitu sel-sel memori yang bersifat melindungi dan telah terbentuk pada waktu sebelumnya (Ellis 1988). Antibodi akan terbentuk setelah dilakukan vaksinasi yang dapat melawan suatu penyakit. Antibodi akan terbentuk apabila sel penghasil antibodi yaitu sel limposit (sel-B) telah berfungsi dengan baik. Antibodi yang spesifik akan terbentuk jika ada rangsangan antigen spesifik (penginfeksi) yang masuk kedalam tubuh ikan yang berfungsi merangsang makrofage untuk memfagosit (memakan) patogen tersebut (Tizard 1988).

Teknik pemberian vaksin dapat dilakukan melalui penyuntikan, perendaman, atau pencampuran dalam pakan (Ellis 1988). Teknik paling efektif untuk vaksinasi yaitu dengan penyuntikan secara intraperitoneal, karena teknik tersebut aman dari kerusakan (Ellis 1988). Selain itu juga, vaksin yang diberikan dapat terserap seluruhnya di dalam tubuh sehingga pembentukan kekebalan tubuh berlangsung cepat (Anderson 1974).

Pada umumnya vaksin terdiri dari 2 tipe yaitu vaksin mati (inaktif) dan vaksin hidup (aktif). Vaksin mati diberikan dari patogen yang diinaktivasi (dimatiikan) dengan cara pemanasan pada suhu 100° C (heat killed), dengan menggunakan formalin (formaline killed), dan diinaktivasi dengan menggunakan sonikator (sonicated killed). Sedangkan vaksin yang hidup berupa organisme patogen yang dilemahkan virulensnya (Ellis 1988).

Pemanasan dilakukan dalam *water bath* dengan suhu 100°C selama 85 menit¹.

¹ Wawancara dengan peneliti di Balai Riset

Perikanan Budidaya Air Tawar, Bogor
Drh. Uni Purwaningsih

Kemudian setelah diinaktivasi, larutan BHIB yang berisi bakteri disentrifuse untuk diambil endapannya, kemudian endapan dicuci dengan menggunakan larutan saline sebanyak dua kali (Lestari 2010). Penelitian menggunakan metode pemanasan ini telah dilakukan sebelumnya namun di ujicobakan pada bakteri *Aeromonas hydrophila* pada berbagai jenis ikan Lele (Utami 1992), Mas (Ferdianto 1993), dan Nila (Tauhid dan Bastiawan 1993). Oleh sebab itu dilakukan penelitian bakteri dengan bakteri *Mycobacterium fortuitum* dengan ikan uji gurami.

Kepadatan bakteri *Mycobacterium fortuitum* isolat 31 adalah 10^{11} cfu berdasarkan hasil uji pendahuluan (LD_{50} 48 jam) yang telah dilaksanakan, merupakan kepadatan yang mematikan ikan uji sebanyak 50% dalam 48 jam. Kepadatan bakteri yang efektif untuk dijadikan vaksin adalah kepadatan yang tidak menimbulkan penyakit dan mematikan pada ikan uji, tetapi dapat merangsang antibodi spesifik. Maka dari itu dapat diasumsikan kepadatan bakteri dibawah 10^{11} cfu efektif untuk dijadikan vaksin. Sesuai dengan penelitian sebelumnya (Bangkit 2011) vaksin *Mycobacterium fortuitum* yang diinaktivasi oleh formalin 1% dengan kepadatan 10^7 cfu terbukti tepat dan efisien dalam memicu imunitas gurami terhadap bakteri *Mycobacterium fortuitum* dengan nilai kelangsungan hidup relatif 80%, nilai indeks fagositik yang meningkat serta gejala klinis yang ringan

Penelitian bertujuan untuk mengetahui dosis yang efektif dalam menginaktivasi *Mycobacterium fortuitum*, status keberadaan *Mycobacterium fortuitum* pada ikan gurami setelah masa induksi vaksin dan uji tantang dari gejala klinis serta mengetahui tingkat kelangsungan hidup ikan gurami setelah diuji tantang

METODE

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL). Jumlah perlakuan pada penelitian ini sebanyak 5 perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang 3 kali. Perlakuan yang digunakan berdasarkan hasil pendahuluan.

Uji pertumbuhan bakteri secara *in vitro* bertujuan untuk mencari puncak pertumbuhan bakteri *Mycobacterium fortuitum*, yang hasilnya akan digunakan sebagai batas atas dosis yang akan digunakan dalam uji pathogenitas.

Berdasarkan uji *in vitro* dan *in vivo* dosis bakteri *Mycobacterium fortuitum* yang efektif untuk dijadikan vaksin *Mycobacterium fortuitum* berada di bawah nilai LD₅₀ 48 jam². Sehingga perlakuan yang akan digunakan dalam penelitian utama adalah sebagai berikut:

Perlakuan A : ikan disuntik dengan vaksin *Mycobacterium fortuitum* dengan dosis 10¹¹ cfu.

Perlakuan B : ikan disuntik dengan vaksin *Mycobacterium fortuitum* dengan dosis 10⁸ cfu.

Perlakuan C : ikan disuntik dengan vaksin *Mycobacterium fortuitum* dengan dosis 10⁵ cfu.

Perlakuan D : ikan disuntik dengan vaksin *Mycobacterium fortuitum* dengan dosis 10² cfu.

Perlakuan E : ikan disuntik dengan Shouten broth 0,1 ml. (kontrol).

Parameter Yang Diuji

Titer Antibodi

Pengamatan titer antibodi dilakukan untuk mengamati antibodi yang terdapat dalam darah ikan sebelum dan sesudah vaksinasi. Pengamatan dilakukan terhadap beberapa ekor sampel ikan uji.

Cara pengambilan dan penghitungan titer antibodi adalah :

Darah diambil menggunakan jarum suntik, kemudian dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf.

Darah disentrifuge, serum yang diambil bisa diambil dari supernatan atau denatannya.Uji Aglunitasi dilakukan dalam mikroplate.

Metode penghitungan yang digunakan adalah metode titrasi (kebalikan pengenceran). Metode titrasi adalah prosedur pengujian untuk menemukan adanya antibodi khusus yang disusun dalam seri pengenceran bertingkat dari semua yang diuji. Perbandingan terbalik

pengenceran tertinggi yang memberikan reaksi positif dikenal sebagai titer dan merupakan ukuran jumlah antibodi dalam serum tadi (Tizard 1988).Dasar reaksi aglutinasi adalah penggumpalan partikel atau sel yang tidak larut menjadi gumpalan yang lebih besar (Tjokonegoro 1976 dalam Utami 1992).

Pengenceran serum dilakukan pada *Titer Pack* dengan 12-kali pengenceran (12 sumur), lubang ke satu *mikroplate* dikosongkan, sedangkan lubang ke dua sampai lubang ke 12 diisi dengan larutan salin 50 µl dengan menggunakan *mikropipet*. Kemudian serum ikan sebanyak 50 µl dimasukan ke dalam lubang ke satu dan ke dua. Pada lubang ke dua, campuran salin dan serum diaduk hingga homogen dengan menggunakan *mikropipet*, kemudian dari lubang dua diambil sebanyak 50 µl lalu pindahkan ke lubang tiga, diaduk kembali kemudian dipindahkan ke lubang selanjutnya, demikian seterusnya hingga lubang ke 12. Pada lubang ke 12, diambil kembali 50 µl lalu dibuang (pada lubang satu berisi 50 µl serum dan pada lubang dua hingga 12 berisi 50 µl campuran salin dan serum).

Diferensial Leukosit

Diferensial leukosit dapat diketahui dengan cara menghitung sel-sel darah limfosit, monosit, dan neutrofil. Dari 100 sel darah putih tersebut, dihitung berapa jumlah sel limfosit, monosit, dan neutrofil

$$\text{Persentase Limfosit} = \frac{L}{100} \times 100\%$$

$$\text{Persentase Monosit} = \frac{M}{100} \times 100\%$$

$$\text{Persentase Neutrofil} = \frac{N}{100} \times 100\%$$

Keterangan :

L = Jumlah limfosit dalam sel darah putih

M = Jumlah monosit dalam sel darah putih

N = Jumlah neutrofil dalam sel darah putih

$$L + M + N = 100 \text{ sel}$$

$$L \% + M \% + N \% = 100 \%$$

² Menurut hasil penelitian yang dilakukan di Balai Riset Budidaya Air Tawar, Bogor
Peneliti Drh. Uni Purwaningsih.

Efektivitas Vaksin Dari Bakteri *Mycobacterium fortuitum* Yang Diaktivasi Dengan Pemanasan Untuk Pencegahan Penyakit Mycobacteriosis Pada Ikan Gurami

Indeks Fagositosis

Pengamatan Indeks Fagositosis dilakukan sebanyak empat kali yaitu satu minggu sebelum vaksinasi, dua minggu setelah vaksinasi, dan setiap minggu pada masa uji tantang. Pengamatan pada masa aklimatisasi untuk mengetahui kemampuan sel-sel fagosit dalam melakukan mekanisme fagositosis sebelum diberi perlakuan, dan

pengamatan pada akhir perlakuan untuk mengetahui kemampuan leukosit dalam melakukan mekanisme fagositosis. Aktivitas fagositik dilakukan berdasarkan persen (%) sel darah putih yang memfagosit dengan sel darah putih yang tidak memfagosit. Perhitungannya secara matematika menurut Anderson dan Siwicki (1993) dalam Martiani (2008) adalah :

$$\text{Indeks Fagositosis} = \frac{\sum \text{Sel Darah Putih Yang Memfagosit}}{100} \times 100\%$$

Uji Tingkat Kelangsungan Hidup Ikan

Tingkat kelangsungan hidup / Survival Rate (SR) diamati pada masa uji tantang. Pengamatan parameter tersebut dilakukan setiap hari. Menurut Effendie (1997) perhitungan parameter SR adalah sebagai berikut :

$$SR = \frac{N_t}{N_0} \times 100\%$$

Keterangan :

- SR = Survival Rate
- Nt = Jumlah ikan gurami yang hidup pada akhir pengamatan
- No = Jumlah ikan gurami pada awal pengamatan

KHR = kelangsungan hidup relatif

MV = mortalitas ikan yang di vaksin

MK = mortalitas ikan kontrol

Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diamati antara lain suhu, derajat keasaman (pH) dan amonia (NH_3). Pengamatan dilakukan satu minggu sekali mulai dari masa aklimatisasi sampai masa uji tantang. Pada saat uji tantang suhu diamati setiap

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keterangan :
hari.

Analisis Data Hasil Penelitian

Survival Rate (SR) ikan uji setelah diuji tantang, dianalisis dengan analisis sidik ragam menggunakan uji F. Apabila terdapat perbedaan antara perlakuan dianalisis dengan uji Duncan dengan taraf kepercayaan 5 %. Adapun hasil pengamatan titer antibodi, diferensial leukosit dan kualitas air dianalisis secara deskriptif.

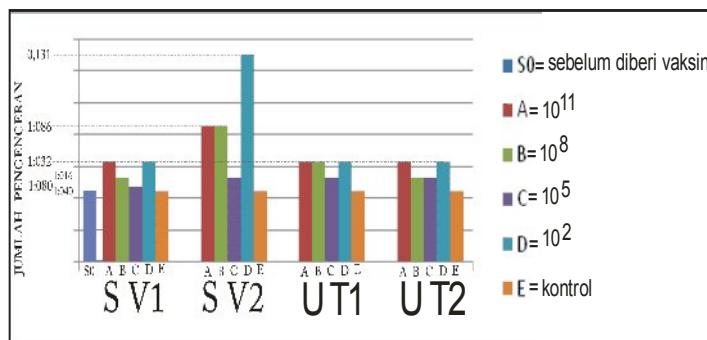
Titer Antibodi

Keberadaan antibodi setelah vaksinasi dapat dideteksi dengan uji titer antibodi dengan metode aglutinasi langsung melalui pengenceran serum darah. Jika dalam serum darah mengandung antibodi, maka ketika serum darah diberi antigen berupa sel hidup *Mycobacterium fortuitum* akan terjadi aglutinasi kompleks antigen-antibodi.

Berdasarkan hasil pengamatan titer antibodi menunjukkan bahwa antibodi pada ikan uji sebelum vaksinasi (S0), setelah

vaksinasi satu minggu (S V1), setelah vaksinasi dua minggu (S V2), setelah uji tantang satu minggu (U T1), dan setelah uji

tantang dua minggu (U T2) menunjukkan adanya perbedaan (Gambar 1).



Gambar 1. Grafik hasil pengamatan Titer Antibodi.

Keterangan :

- S0 = Sebelum diberi vaksin
- S V1 = Setelah vaksinasi satu minggu
- S V2 = Setelah vaksinasi dua minggu
- U T1 = Setelah satu minggu uji tantang
- U T2 = Setelah dua minggu uji tantang

Pada Gambar 1 terlihat sebelum divaksinasi (S0) ikan uji telah mempunyai antibodi terhadap bakteri *Mycobacterium fortuitum*, hal ini terjadi karena induk gurami dari ikan uji diduga pernah terpapar *Mycobacterium fortuitum*. Menurut Sumiarti (2000), adanya anti bodi pada ikan sebelum di vaksinasi berasal dari bawaan induknya (*innate*) yang pernah terpapar bakteri tertentu. Setelah ikan uji divaksinasi selama satu minggu (perlakuan A (10^{11} cfu), B (10^8 cfu), C (10^5 cfu), dan D (10^2 cfu)) terjadi peningkatan titer antibodi hal ini menunjukkan bahwa vaksin yang diberikan dapat merespon produksi antibodi.

Pada minggu kedua setelah vaksinasi peningkatan titer antibodi terus terjadi pada setiap perlakuan. Perlakuan A (10^{11} cfu), B (10^8 cfu), dan D (10^2 cfu) titer antibodinya lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya, dilihat dari frekuensi pengenceran (Gambar 3). Hal ini menunjukkan bahwa vaksin yang diberikan dengan bertambahnya waktu masih merespon produksi antibodi spesifik. Sebagaimana pendapat Bratawijaya (1991), bahwa antibodi spesifik membutuhkan

waktu untuk mengenal antigen sebelum dapat memberikan respon.

Sedangkan menurut Tizard (1988), tingginya antibodi pada ikan yang divaksin adalah karena rangsangan antigen yang dimulai dengan masuknya antigen ke dalam tubuh ikan, kemudian difagosit oleh makrofag. Makrofag ini akan mengirim sinyal kepada limfosit sehingga memberikan respon. Limfosit tersebut akan membesar dan berproliferasi yang kemudian membentuk antibodi spesifik sesuai dengan antigen yang memberikan rangsangan. Hal yang samaa dikemukakan oleh Anderson (1974), bahwa vaksin dapat digunakan untuk menimbulkan antibodi spesifik pada tubuh ikan karena vaksin biasanya berisi antigen penyakit yang dapat merangsang ikan untuk memproduksi antibodi yang aktif melawan penyakit tersebut.

Dari ketiga perlakuan tersebut, perlakuan D memberikan titer antibodi paling tinggi dengan pengenceran 1:128. Hal ini memperlihatkan bahwa bakteri *Mycobacterium fortuitum* pada kepadatan 10^2 merupakan kepadatan yang terbaik dalam memicu produksi antibodi spesifik.

Pada saat memasuki masa uji tantang minggu kesatu (U T1) antibodi dalam tubuh ikan mengalami penurunan, dimana untuk perlakuan A (10^{11} cfu) dan B (10^8 cfu) menggantikan dua setelah vaksinasi aglutinasi terjadi pada pengenceran 1:64, sedangkan setelah uji tantang aglutinasi terjadi pada pengenceran 1:32. Perlakuan D (10^2 cfu) menggantikan dua setelah vaksinasi aglutinasi terjadi pada pengenceran 1:128 menjadi 1:64 setelah diuji tantang. Pada

Efektivitas Vaksin Dari Bakteri *Mycobacterium fortuitum* Yang Diinaktivasi Dengan Pemanasan Untuk Pencegahan Penyakit Mycobacteriosis Pada Ikan Gurami

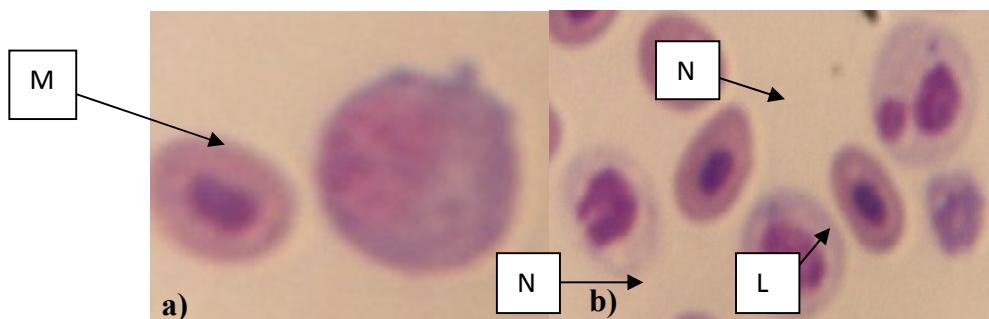
perlakuan C (10^5 cfu) dan E (kontrol) tidak menunjukkan perubahan jumlah antibodi.

Pada uji tantang minggu ke dua (U T2) pada perlakuan B (10^8 cfu) terjadi penurunan antibodi terlihat dari adanya perubahan tingkat pengenceran dari 1:16 menjadi 1:08. Sedangkan untuk perlakuan lainnya tidak mengalami perubahan jumlah antibodi (Gambar 1). Terjadinya penurunan antibodi dalam tubuh ikan uji pada masa uji tantang memperlihatkan bahwa antibodi yang terbentuk digunakan untuk melawan antigen yang masuk yaitu *Mycobacterium fortuitum*. Hal ini menunjukkan bahwa dosis vaksin yang diberikan pada saat ikan diberi vaksin mempengaruhi sistem kekebalan tubuh ikan dan pada saat di uji tantang kekebalan tubuh ikan merespon patogen yang masuk dalam tubuh sehingga ikan dapat mempertahankan diri darri serangan patogen. Sesuai dengan pernyataan Rukyani *et al* (1997) bahwa adanya peningkatan intensitas serangan patogen akan memicu kebutuhan antibodi.

Dari uraian diatas memperlihatkan bahwa perlakuan A (10^8 cfu) dan D (10^2 cfu) merupakan dosis terbaik dalam meningkatkan antibodi, terlihat dari tingginya hasil uji titer antibodi ikan uji setelah di uji tantang dengan *Mycobacterium fortuitum*. Diantara kedua perlakuan tersebut yang paling baik adalah perlakuan D (10^2 cfu) dimana jumlah antibodinya tertinggi, sehingga mampu untuk mempertahankan diri dari serangan patogen, terlihat dari tingginya tingkat kelangsungan hidup dan kelangsungan hidup relatif dibandingkan dengan perlakuan lainnya masing-masing sebesar 80% dan kelangsungan hidup relatif 71,43 % (Tabel 5 dan Tabel 6).

Pengamatan Diferensial Leukosit

Pengamatan diferensial leukosit dilakukan dengan menghitung persentase jenis-jenis leukosit yang berperan dalam sistem ketahanan tubuh yaitu limfosit, monosit, dan neutrofil (Gambar 2).



Gambar 2. Gambar Sel Darah Ikan Gurami (dokumentasi BRPBAT)
a. Monosit (M), b. Limfosit (L), Neutrofil (N)

Pengamatan ini dilakukan sebanyak 5 kali, yaitu pada saat sebelum vaksinasi (S0), pada masa induksi vaksin (minggu ke-1 (S V1) dan minggu ke-2 (S V2)), dan pada saat minggu ke-1 uji tantang dan minggu

ke-2 setelah uji tantang. Nilai diferensial leukosit yang diambil merupakan rata-rata persentasi proporsi tiga jenis sel leukosit yaitu limfosit, monosit, dan neutrofil dalam darah. (Tabel 1).

Tabel 1. Limfosit, Monosit dan neutrofil dalam darah

Pengamatan	P erlakuan (cfu)	Rata-Rata		
		Li mfosit (%)	M onosit (%)	Neu trofil (%)
S0 (sebelum perlakuan)	0	85	11	3
S V1 induksi minggu ke-1	A (10^{11})	77	17	6
	B (10^8)	81	13	6
	C (10^5)	63	26	10

	D (10^2)	65	33	12
	E (kontrol)	73	20	7
S V2 induksi minggu ke-2	A (10^{11})	75	22	3
	B (10^8)	78	17	5
	C (10^5)	78	11	11
	D (10^2)	67	18	15
	E (kontrol)	78	17	5
Uji Tantang minggu ke-1 (U T1)	A (10^{11})	93	5	2
	B (10^8)	68	28	3
	C (10^5)	78	16	10
	D (10^2)	61	23	16
	E (kontrol)	89	7	4
Uji Tantang minggu ke-2 (U T2)	A (10^{11})	90	6	4
	B (10^8)	71	26	3
	C (10^5)	81	12	7
	D (10^2)	72	16	12
	E (kontrol)	90	6	4

Dari hasil pengamatan terhadap diferensial leukosit ikan uji selama masa penelitian (Gambar 3), ternyata proporsi limfosit menunjukkan jumlah yang paling tinggi pada semua perlakuan dibandingkan dengan jumlah monosit atau neutrofil. Menurut Rukyani *et al* (1997), proporsi limfosit yang tinggi dikarenakan proporsinya dalam leukosit besar. Dellman dan Brown (1989) *dalam* Martiani (2008) menyatakan bahwa proporsi limfosit yang tinggi disebabkan oleh fungsinya dalam menyediakan zat kebal tubuh. Penjelasan di atas dapat dilihat dalam Tabel 1 bahwa setiap perlakuan mengalami peningkatan (rata-rata 60%) baik setelah ikan disuntik vaksin dan di uji tantang yang menunjukkan bahwa tubuh ikan merespon dari vaksin yang diberikan.

Persentase monosit semua perlakuan pada masa uji tantang minggu ke-1 meningkat dibandingkan masa induksi vaksin minggu ke-2 kecuali pada kontrol (monosit dari 7% menjadi 6%). Perlakuan D (10^2 cfu) menunjukkan jumlah monosit

terbanyak (monosit= 23%, neutrofil= 16%) dari semua perlakuan keadaan tersebut mengidikasikan bahwa limfosit sedang berkerja sebagai penyedia zat kebal tubuh dan merangsang monosit memperbanyak diri dalam melawan patogen yang masuk kedalam tubuh ikan, jumlah sel darah diatas sesuai dengan data hasil titer antibodi yang menunjukan bahwa perlakuan D (10^2 cfu) memiliki serum terbayak yang mempengaruhi sel darah putih ikan merangsang antibodi spesifik ikan.

Menurut Roberts (1978) *dalam* Rukyani *et al* (1997) peningkatan monosit terjadi karena fungsinya sebagai makrofag dan memfagosit benda-benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Monosit berumur pendek dalam darah, lalu masuk ke dalam jaringan dan berdiferensiasi menjadi makrofag sehingga jumlah monosit berfluktuasi dalam darah. Oleh karena itu diduga terjadi perlawanan dari sel darah putih gurami pada saat uji tantang terhadap bakteri *Mycobacterium fortuitum*.

Efektivitas Vaksin Dari Bakteri *Mycobacterium fortuitum* Yang Diaktivasi Dengan Pemanasan Untuk Pencegahan Penyakit Mycobacteriosis Pada Ikan Gurami

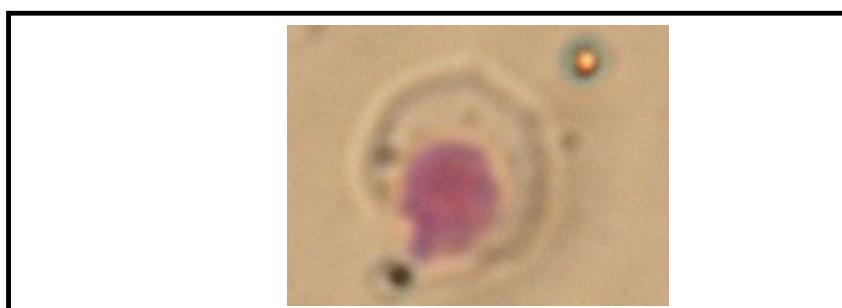
Peningkatan aktivitas perlawanannya tersebut menyebabkan peningkatan kebutuhan sel-sel fagosit. Jumlah neutrofil juga meningkat sebagaimana monosit pada saat uji tantang minggu kedua. Peningkatan jumlah neutrofil ini berhubungan dengan respon melawan partikel asing yang masuk. Menurut Tizard (1988), neutrofil merupakan garis pertahanan pertama yang bergerak cepat ke arah bahan asing dan menghancurnkannya.

Sebagaimana halnya monosit, neutrofil juga merupakan sel berumur pendek sehingga jumlahnya dalam darah berfluktuasi. Fluktuasi jumlah limposit untuk perlakuan D (10^2 cfu) sebagai penyedia zat kebal seiring menurun jumlahnya dalam komponen sel darah putih jumlah persentase tertinggi monosit dan netrofil

dibandingkan dengan perlakuan yang lain dalam memproduksi sel untuk menyerang patogen yang masuk kedalam tubuh ikan, bisa kita liat dalam tabel diatas (Tabel 1).

Indeks Fagositosis

Dari hasil pengamatan indeks fagositosis dalam darah ikan uji, terlihat bahwa rata-rata nilai sel fagosit pada kelompok ikan yang diberi vaksin (perlakuan A (10^{11} cfu), B (10^8 cfu), C (10^5 cfu) dan D (10^2 cfu)) lebih tinggi dibandingkan dengan ikan uji yang tidak diberi vaksin (E kontrol). Hal ini disebabkan karena vaksin dapat merangsang kemampuan fagosit terhadap antigen yang lebih baik (Gambar 3).



Gambar 3. Fagositosis Antigen oleh Sel Fagosit Fungsional (Sumber Dokumentasi Pribadi)

Untuk perlakuan vaksinasi, perlakuan D (10^2 cfu) memiliki jumlah sel fagosit yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan A(10^{11} cfu), B (10^8 cfu), dan C (10^5 cfu). Hal ini diduga disebabkan perbedaan kepadatan, pada perlakuan A (10^{11} cfu), B (10^8 cfu) dan C (10^5 cfu) toksitas bakteri yang diaktivasi kembali muncul akibat kepadatan yang tinggi, sehingga selain memproduksi antigen

spesifik *Mycobacterium fortuitum* juga menimbulkan efek toksik pada ikan gurami. Adanya perbedaan nilai sel fagosit antara ikan yang diberi vaksin dengan ikan yang tidak diberi vaksin mengindikasikan bahwa ikan uji yang diberi vaksin memiliki kemampuan pertahanan spesifik yang lebih baik dibandingkan dengan ikan uji tanpa pemberian vaksin (Gambar 5).

Tabel 2. Data Presentasi Sel Fagositosis

Pengamatan	Nilai Sel Fagosit Fungsional pada Tiap Perlakuan (%)				
	A	B	C	D	E
Masa Aklimatisasi	32	32	32	32	32
Masa Induksi Vaksin minggu 1	73	74	56	71	44
Masa Induksi Vaksin minggu 2	58	51	52	60	38
Masa Uji Tantang Minggu ke-1	64	59	64	71	30
Masa Uji Tantang Minggu ke-2	74	52	67	82	51

Dari Gambar 5 dapat diketahui jika indeks fagositosis yang paling baik terdapat perlakuan D (10^2 cfu) karena sel-sel darah putihnya mempunyai respon fagosit yang paling baik terhadap antigen yang masuk ke dalam tubuh ikan gurami 71% pada masa uji tantang minggu ke-1 dan 82% pada masa uji tantang minggu ke dua. Namun demikian pada perlakuan A (10^{11} cfu) walaupun nilai indeks fagositosisnya tidak setinggi perlakuan D (10^2 cfu) tapi kemampuan sel-sel darah putih dalam memfagosit antigen masih efektif dalam menghasilkan tingkat kelangsungan hidup ikan gurami yang relatif tinggi, karena jika kita lihat dari hasil titer antibodi perlakuan A (10^{11} cfu) pada saat uji tantang memiliki jumlah serum darah yang hampir sama dengan perlakuan D (10^2 cfu). (Gambar 3).

Apabila memperhatikan perlakuan B (10^8 cfu) dan C (10^5 cfu) terhadap infeksi *Mycobacterium fortuitum*, pada kedua perlakuan ini sel-sel darah fagosit sudah terlihat bekerja, namun kemampuan sel darah putih untuk memfagosit antigen kurang baik sehingga ikan masih bisa terserang oleh *Mycobacterium fortuitum*. Hal ini menyebabkan pada perlakuan B (10^8 cfu) dan C (10^5 cfu) nilai tingkat kelangsungan hidup yang dihasilkan tidak setinggi perlakuan A (10^{11} cfu).

Pada perlakuan E (kontrol), sel fagosit sama sekali tidak bekerja dengan baik sehingga jika dilihat dari hasil titer antibodi serum darah tidak mengalami perubahan yang menunjukkan bahwa tidak terbentuknya antibodi spesifik pada tubuh ikan, sehingga ikan gurami mudah sekali terinfeksi bakteri *Mycobacterium fortuitum*. Hasil dari nilai fagositosis di atas menunjukkan kesesuaian dengan uji sebelumnya yaitu uji diferensial leukosit, yaitu perlakuan D (10^2 cfu) memiliki respon memiliki persentase leukosit yang tertinggi (Tabel 1) dan memiliki nilai fagositosis sel dengan persentase tinggi pula (Gambar 5), hal tersebut menunjukkan bahwa jumlah sel darah putih yang teramat memjalankan fungsi memfagosit bakteri *Mycobacterium fortuitum* dengan baik.

Gejala Klinis Ikan Uji Selama Uji Tantang

Perlakuan A (10^{11} cfu) mengalami gejala bercak merah pada hari ke-4 setelah uji tantang (Gambar 4), pada hari ke-11 ikan mengalami gejala kurang nafsu makan dan megap-megap di permukaan air dan timbul gejala exophthalmia (mata menonjol). Hal ini diduga karena kepadatan bakteri yang tinggi dapat mengakibatkan toksisitas atau menimbulkan infeksi bakteri *Mycobacterium fortuitum* pada ikan gurami.

Tabel 3 Gejala Klinis dan Respon Makan Ikan Gurame

Perlakuan	Gejala Klinis Dan Respon Harian Ikan Gurami Pada Waktu Uji Tatang				
	1-3	4-6	7-9	10-12	13-15
A 1	1a	1-4a	1-4a	1-4a	1-3-4b
A 2	1a	1a	1-4a	1-4a	1-4a
A 3	1a	1a	1a	2-4b	1-4a
B 1	1a	1-4a	1-4a	1-4a	1-4a
B 2	1a	1a	1-4a	1-4a	1-4a
B 3	1a	1a	1-4a	1-4a	2b
C 1	1a	1a	1-4a	2-3a	1-3-4b

Efektivitas Vaksin Dari Bakteri *Mycobacterium fortuitum* Yang Diaktivasi Dengan Pemanasan Untuk Pencegahan Penyakit Mycobacteriosis Pada Ikan Gurami

C 2	1a	1-4a	1b	1-4a	1-4a
C 3	1a	1a	1-4a	1-4a	1-4a
D 1	1a	1a	1-4a	1-4a	1-4a
D 2	1a	1a	1a	1-4a	1-4a
D 3	1a	1a	1-4a	1-4a	1-4a
E 1	1a	1-4a	1-4a	1-4a	2-4b
E 2	1a	1-4a	1a	1-4a	1-4a
E 3	1a	1-4a	2-4a	1-4a	2c

Perlakuan B (10^8 cfu) memiliki gejala klinis yang rendah. Gejala klinis pada perlakuan ini muncul pada hari ke-5 dan gejala umum mycobacteriosis muncul pada hari ke-4. Hal ini diduga karena kepadatan yang masih tinggi dan kemungkinan masih bersifat toksik sehingga antibodi ikan gurami untuk melawan infeksi dari *Mycobacterium fortuitum* kurang maksimal.

Gejala klinis yang sangat parah nampak pada perlakuan C (10^5 cfu) dengan gejala bintik merah dan mata menonjol yaitu pada hari ke-10, dan gejala umum mycobacteriosis muncul pada hari ke-6. Antigen yang disuntikan dengan kepadatan tersebut tidak mampu memberikan rangsangan maksimal terhadap antibodi untuk melawan infeksi *Mycobacterium fortuitum*.

Perlakuan D (10^2 cfu) memiliki gejala klinis sangat ringan. Gejala klinis serempak pada setiap perlakuan dimulai pada hari ke-10 akan tetapi pada akhir uji tantang ikan gurami menunjukkan perubahan kearah sehat kembali. Antigen yang terkandung dalam vaksin yang diberikan dengan kepadatan bakteri 10^2 cfu diduga berhasil merangsang antibodi pada ikan gurami lebih baik apabila dibandingkan dengan perlakuan lain dalam mencegah infeksi *Mycobacterium fortuitum*.

Perlakuan E (kontrol) hari ke-4 setelah uji tantang timbul gejala klinis berupa bercak merah dan perubahan warna pada bagian badan, kemudian di hari ke-6 timbul bercak merah pada hampir semua ikan uji. Karena perlakuan ini sama sekali tidak diberikan rangsangan antigen untuk melawan infeksi *Mycobacterium fortuitum*.

Semua gejala klinis yang muncul seperti warna ikan menjadi gelap (*melanosis*), mata menonjol (*exophthalmia*), timbul granul (benjolan) pada permukaan tubuh serta pada organ hati (Gambar 10), limpa dan ginjal, *popping eye* dan bercak merah sesuai dengan pernyataan Tappin (2007) dan Irianto (2005).

Penurunan tingkat kelangsungan hidup ikan uji yang merata terjadi mulai dari hari ke-10 sampai dengan hari ke-14 masa uji tantang (Gambar 6). Penurunan tingkat kelangsungan hidup ikan uji diduga terjadi karena adanya ketidakseimbangan aktivitas bakteri dengan peningkatan kekebalan tubuh ikan. Aktivitas bakteri lebih kuat dan cepat dibandingkan dengan aktivitas peningkatan kekebalan alami tubuh ikan, sehingga pertahanan tubuh ikan lemah akibat infeksi *Mycobacterium fortuitum*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Tizard (1988) bahwa apabila kecepatan respon imun menghadapi infeksi lambat, maka dapat menyebabkan kematian sebelum respon imun tubuh dapat mengatasi infeksi.

Walaupun hampir semua perlakuan memiliki gejala klinis, tetapi pada perlakuan D (10^2 cfu) tidak mengalami gejala serius (mata menonjol, limpa dan ginjal, *popping*

eye) dengan kata lain vaksin *Mycobacterium fortuitum* yang diinaktivasi dengan *heat kill* dengan kepadatan 10^2 cfu mampu memberikan respon imun tertinggi diantara semua perlakuan.



Gambar 4. Bercak Merah (Sumber Dokumentasi Pribadi)



Gambar 5. Perubahan Warna (Sumber Dokumentasi Pribadi)



Gambar 6. Popping Eye (Sumber Dokumentasi Pribadi)



Gambar 7. Granul (benjolan) & Mata Menonjol (*exophthalmia*) (Sumber Dokumentasi Pribadi)



Gambar 8. Granul pada Hati (Sumber Dokumentasi Pribadi)

Tingkat Kelangsungan Hidup Ikan Uji Tantang

Hasil pengamatan terhadap mortalitas dan tingkat kelangsungan hidup ikan gurami setiap hari selama 14 hari pada masa uji tantang dengan bakteri *Mycobacterium fortuitum* yang diinaktivasi dengan *heatkill* 85°C selama 1 jam, menunjukkan bahwa setiap kepadatan bakteri memberikan mortalitas dan tingkat kelangsungan hidup yang berbeda (Tabel 4).

Pada gambar 6 terlihat mortalitas ikan uji mulai terjadi pada hari ke-4 setelah uji tantang melalui penyuntikan dengan bakteri *Mycobacterium fortuitum*, yaitu pada

perlakuan A, B, dan E. perlakuan C mulai terjadi kematian pada hari ke-5 sedangkan perlakuan D baru terjadi kematian pada hari ke-10. Pada pengamatan terakhir, yaitu hari ke-14 jumlah ikan yang mati tertinggi pada perlakuan E, yaitu sebanyak 21 ekor sehingga menghasilkan tingkat kelangsungan hidup terendah sebesar 30%.

Mortalitas yang lebih kecil terjadi pada perlakuan A (10^{11} cfu), perlakuan B (10^8 cfu), dan terjadi juga pada perlakuan E (kontrol). Perlakuan C (10^5 cfu) lebih besar terjadi mortalitas pada hari ke 5 dan perlakuan D (10^2 cfu) mengalami mortalitas pada hari ke 10. Semua perlakuan

mengalami mortalitas serempak dihari ke 10 sampai akhir pengamatan. Rata-rata tingkat kelangsungan hidup perlakuan A (10^{11} cfu) yaitu 66,67%, perlakuan B (10^8 cfu) yaitu 56,67%, perlakuan C (10^5 cfu) yaitu

53,33%. Rata-rata kelangsungan hidup tertinggi diperoleh perlakuan D (10^2 cfu) yaitu 80% dan rata-rata kelangsungan hidup terendah terjadi pada perlakuan E (kontrol) yaitu 30%.

Tabel 4. Molaritas dan Rata-rata Tingkat Kelangsungan Hidup (KH) Ikan Uji Selama Dua Minggu Masa Uji Tantang.

Perlakuan	Mortalitas Ikan Uji Pengamatan Hari ke-					Jumlah	Rata-Rata KH (%)
	10	11	12	13	14		
A						10	66,67
B						13	56,67
C						14	53,33
D						6	80
E						21	30

Keterangan :

- KH = Kelangsungan hidup
A = Ikan gurami disuntik oleh Vaksin *Mycobacterium fortuitum* dengan kepadatan 10^{11} cfu.
B = Ikan gurami disuntik oleh Vaksin *Mycobacterium fortuitum* dengan kepadatan 10^8 cfu.
C = Ikan gurami disuntik oleh Vaksin *Mycobacterium fortuitum* dengan kepadatan 10^5 cfu.
D = Ikan gurami disuntik oleh Vaksin *Mycobacterium fortuitum* dengan kepadatan 10^2 cfu.
E = Ikan gurami disuntik dengan Shouten broth 0,1 ml

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perbedaan dosis kepadatan bakteri yang disuntikkan tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap kelangsungan hidup ikan uji. Berdasarkan uji Duncan perlakuan A (10^{11} cfu), B (10^8 cfu), C (10^5 cfu), dan E (kontrol) tidak

berbeda nyata, namun berbeda nyata dengan perlakuan D (10^2 cfu). Serta untuk perlakuan A (10^{11} cfu), B (10^8 cfu), dan C (10^5 cfu) tidak berbeda nyata antar perlakuan tersebut, tetapi juga berbedanya dengan perlakuan E (kontrol) (Tabel 5).

Tabel 5. Rata-rata Tingkat Kelangsungan Hidup dan Signifikansi Pemberian Perlakuan

Perlakuan	Rata-Rata KH (%)	Sig _(0,05)
A (10^{11} cfu)	66,67	ab
B (10^8 cfu)	56,67	ab
C (10^5 cfu)	53,33	ab
D (10^2 cfu)	80	b
E (kontrol)	30	a

Keterangan : Setiap notasi hurup yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan antar perlakuan yang memeliki notasi sama

Pada Tabel 5 terlihat bahwa tingkat kelangsungan hidup pada perlakuan D (10^2 cfu) lebih besar dibandingkan dengan perlakuan lainnya, yaitu sebesar 80% hal ini mengindikasikan bahwa vaksin dari *Mycobacterium fortuitum* dengan kepadatan 10^2 cfu merupakan kepadatan yang dapat memicu imunitas ikan terhadap serangan *Mycobacterium fortuitum* diperlihatkan dari

titer antibodi yang tinggi, kadar limposit tertinggi, gejala klinis yang lebih ringan dibanding perlakuan lainnya.

Berdasarkan pengamatan terhadap tingkat Kelangsungan Hidup Relatif (KHR), (Tabel 6). Perlakuan D (10^2 cfu) mempunyai tingkat kelangsungan hidup relatif paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lain yaitu 71,43%. Hal ini menunjukkan

kepadatan bakteri 10^2 cfu dapat memicu imunitas ikan uji pada level optimal dan efektif sesuai dengan pendapat Ellis (1988) yang menyatakan suatu vaksin dikatakan efektif apabila nilai KHR $\geq 50\%$, tingkat kematian pada kontrol paling sedikit 30%, sedangkan tingkat kematian pada ikan yang divaksin harus dibawah 24%. Perlakuan A (10^{11} cfu) juga merupakan vaksin dengan

kepadatan yang efektif dalam memicu imunitas ikan uji melawan bakteri *Mycobacterium fortuitum* tapi jika dibandingkan dengan perlakuan D (10^2 cfu) pada beberapa paremeter memiliki nilai persentase lebih rendah yaitu parameter diferensial leukosit (Tabel 1), indeks fagositosis (Tabel 2), gejala klinis (Tabel 3), dan rata-rata kelangsungan hidup (Tabel 6).

Tabel 6. Rata-Rata Tingkat Kelangsungan Hidup dan Kelangsungan Hidup Relatif (KHR) Ikan Uji Setelah Uji Tantang.

Perlakuan	Rata-Rata KH (%)	KHR (%)
A (10^{11} cfu)	66,67	53,39
B (10^8 cfu)	56,67	38,1
C (10^5 cfu)	53,33	33,33
D (10^2 cfu)	80	71,43
E (kontrol)	30	-

Kualitas Air

Nilai parameter kualitas air media pemeliharaan selama penelitian berada pada kisaran yang sesuai dengan untuk pemeliharaan ikan gurami (*Oosphronemus gouramy*) (Tabel 7). Hal ini menunjukkan bahwa hasil penelitian yang diperoleh disebabkan adanya perbedaan perlakuan dan bukan merupakan pengaruh dari

kualitas air. Dimana tertera dalam hasil pengukuran kualitas air, terlihat semua parameter yang diukur dinilai baik karena suhu, pH, dan ammonia terlarut tidak melebihi ataupun kurang dari kisaran optimum dimana keadaan ideal ikan gurami hidup baik dalam media terkontrol ataupun di alam bebas.

Tabel 7. Kisaran Kualitas Air Media Pemeliharaan dan Hasil Pengukuran Kualitas Air Selama Penelitian

Parameter	Kisaran	Satuan	Optimum
Suhu	24-27	°C	24-28*
pH	6,5-7	-	6,5-8**
Ammoni a	0,041 – 0,257	ppm	< 0,52 ***

Keterangan :

- Suhu Optimal = 24-28°C (Susanto 1999)*
 pH Optimal = 6,5-8 (M. Sigantang & B. Sarwono 2005)**
 Ammonia Maksimal = 0,52 (Boyd 1990)***

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa vaksin dari bakteri *Mycobacterium fortuitum* kepadatan 10^2 cfu yang diaktivasi dengan *heat kill* merupakan kepadatan yang paling efektif dalam memicu imunitas gurami terhadap bakteri *Mycobacterium fortuitum* untuk mencegah penyakit Mycobacteriosis pada ikan Gurami (*Oosphronemus gouramy*) dengan nilai kelangsungan hidup 80%,

kelangsungan hidup relatif 71,43%, nilai indeks fagositosis dan diferensiasi leukosit yang tinggi serta gejala klinis yang ringan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson., D. P. 1974. *Fish Immunology*. TFH Publication Inc, Hongkong. 239 hlm.

Efektivitas Vaksin Dari Bakteri *Mycobacterium fortuitum* Yang Diaktivasi Dengan Pemanasan Untuk Pencegahan Penyakit Mycobacteriosis Pada Ikan Gurami

- Bangkit, I. 2011. *Efektivitas Vaksin Mycobacterium Fortuitu Yang Diaktivasi Dengan Formalin Untuk Pencegahan Mycobacteriosis Pada Ikan Gurami (Osphronemus Gouramy)*. Skripsi. Jurusan Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjadjaran. Jatinangor. 58 hal.
- Bratawijaja, K.G, 1991. *Imunologi Dasar*. Edisi kedua. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. 218 hal
- Boyd. 1990. *Water Quality in Ponds for Aquaculture*. Agricultural Eksperiment Station. Auburn University. Alabama. 482 p.
- Effendie, M. I. 1997. *Biologi Perikanan*. Yayasan Pustaka Nusatama, Yogyakarta. 163 hlm
- Ellis, A.E. 1988. General Principles of Fish Vaccination. *Fish Vaccination*. Academic Press Inc, San Diego. 255 p
- Ferdianto. 1993. *Efisiensi Pemakaian Vaksin Bakteri Aeromonas hydrophila Pada Benih Ikan Lele*. Skripsi Sarjana. Universitas Negeri Jakarta.
- Fitriyanti, M. 2008. Pembuatan Heat Killed Vaccine *Aeromonas hydrophila* dan Uji Pengaruhnya Terhadap Imunitas Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Melalui Metode Perendaman. Skripsi. Institut Teknologi Bandung. 74 hlm.
- Gasperz,V. 1991. *Metode Rancangan Percobaan*. CV. Armico, Bandung.442 hlm.
- Irianto, A. 2005. *Patologi Ikan Telestoi*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. 256 hlm.
- Lestari, N. 2010. *Efektivitas Teknik Inaktivasi Bakteri Dalam Pembuatan Vaksin *Streptococcus agalactiae* Untuk Pencegahan Penyakit Streptococciasis Pada Ikan Nila*. Skripsi (Tidak dipublikasikan). Jurusan Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjadjaran. 69 hal.
- Martiani, I. 2008. *Pengaruh Pemberian Vaksin Koi Herpes Virus (KHV) Dari Donor Inang Terhadap Respon Kekebalan Tubuh Ikan Mas (Cyprinus carpio Linn)*. Skripsi. Jurusan Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjadjaran. Jatinangor. 70 hal.
- Noga, E.J. 1995. *Fish disease : Diagnosis And Treatment*. Mosby Elektonic publishing Co. Missouri. 367 hlm.
- Rukyani, A., E. Silvia., A. Sunarto., dan Tauhid. 1997. Peningkatan Respon Kebal Non-Spesifik pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*) dengan Pemberian Imunostimulan (β -Glucan). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. Volume 3 Nomor 1.
- Sigantang, M. dan B. Sarwono. 2005. *Budidaya Gurami*. Penebar swadaya. Jakarta. 72 hal.
- Sumiarti, H. 2000. *Pengaruh Antibiotik Neomycin Terhadap Kelangsungan Hidup Ikan Nila GIFT dalam Menanggulangi Strepccocciasis*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kalautan. UNPAD. Bandung. 84 hlm
- Supriyadi, H. 1988. Vaksinasi Benih ikan Lele (*Clarias batrachus L*) dengan cara perandaman dalam larutan vaksin *Aeromonas hydrophila*. Buletin Penelitian Perikanan Darat. Vol. 26 (4): 550-553.
- Supriyadi, H., P. Taufik, dan Tauhid. 2003. Karakterisasi Patogen, Inang

Spesifik, dan Sebaran Mycobacteriosis. *Jurnal Penelitian Indonesia* Vol. 9 No. 2 Th. 2003. p 39-45.

Susanto, H. 1999. *Budidaya Ikan Gurame*. Kanisius, Yogyakarta. 115 hal.

Tappin, R. A. 2007. *Mycobacteriosis In Rainbowfish*, (online), (<http://PetClubUK> – Mycobacteriosis in Rainbowfish.htm, diakses 9 Maret 2010).

Taukhid dan D. Bastiawan. 1993. Kekebalan Bawaan Pada Benih Ikan Lele (Clarias Sp.) Hasil Pemijahan Induk Yang Divaksin Anti Aeromonas hydrophilla. *Proseding Seminar Hasil Perikanan Air Tawar*.

Tizard, I. 1988. *An Introduction to Veterinary Immunology*. Penerjemah: P. Masduki dan S. Hadjosworo. Pengantar immunologi veteriner. Universitas Airlangga. Surabaya. 197 hlm.

Utami, Endang A.B. 1992. *Penghancuran Sumber Sel Vaksin Terhadap Efektivitas Vaksin Aeromonas hydrophila*. Skripsi Sarjana. Universitas Negeri Jakarta.