

## Imunisasi Ikan Jambal Siam dengan Vaksin *Ichthyophthirius multifiliis*

(IMMUNIZATION OF CATFISH  
WITH *ICHTHYOPHTHIRIUS MULTIFILIIS* VACCINE)

Henni Syawal<sup>1</sup> , Yusni Ikhwan Siregar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, <sup>2</sup>Laboratorium Mikrobiologi  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau Pekanbaru  
Kampus Bina Widya Km 12,5 Simpang Baru Pekanbaru 28293  
Telp. (0761) 63275. Email : zeni\_ifoipb@yahoo.com

### ABSTRACT

An experiment on the immunization of Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*) with *Ichthyophthirius multifiliis* vaccine was conducted in the Laboratorium of Parasitic and Fish Diseases, Faculty Fisheries and Marine Science of Riau University, and Laboratorium of Fish Health of Faculty Fisheries and Marine Science, IPB. The objective of the study was to enhance immune system of the fish fry on the *ichthyophthiriasis* diseases. The vaccine was prepared by prolonged treatment of the fish in water bath of 47°C for 30 minutes. The vaccine was administered to fish by immersion in aquaria. A completely randomized design (CRD) in factorial pattern (3 X 3 X 3) was carried out with dose and time as factors. Doses of treatment and time of immersion were of 1 ml/L, 2 ml/L and 3 ml/L as well as 15, 30 and 45 minutes of treatment time respectively. To evaluate the effectiveness of vaccine in fish, a challenge test to fish was done at day 15 with *theron* 90.000 cell/ aquaria until rearing day 25 after vaccination. It revealed that the best performance ( $p < 0.5$ ) were of dose 3 ml/L and time treatment of 15 minutes in that survival rate of fish was 100% followed by dose 3 ml/L with time 45 minutes (63,3%). The total erythrocyte count, hematocrit level and hemoglobin of tested fish were fluctuated. The water quality were recorded including; dissolved oxygen range from 3,74 - 4,98 ppm; temperature 25 - 30°C and acidity of 4 - 6, quality were of normal range for fish. The optimal vaccine dose is 3 ml/l with 15 minute immersion.

Key words : *Ichthyophthirius multifiliis*, Immunization, Jambal siam, Vaccine

### PENDAHULUAN

Penyakit bintik putih atau dikenal juga dengan *ichthyophthiriasis*, disebabkan oleh parasit protozoa *Ichthyophthirius multifiliis* (Ich), penyakit tersebut dapat menjangkiti hampir semua jenis ikan air tawar dan satu spesies amfibi (Gleeson, 1999 dalam Elsayed *et al.*, 2006). Parasit tersebut menyebar di daerah tropis dan sub tropis. Kematian ikan akibat infeksi penyakit tersebut dipicu oleh adanya sistem budi daya intensif, kondisi ikan stres, serta meningkatnya jumlah parasit dalam kolam (Elsayed *et al.*, 2006). Infeksi Ich mengganggu proses osmoregulasi dan pengaturan ion tubuh ikan, serta mempermudah terjadinya infeksi sekunder oleh bakteri dan jamur (Tumbol *et al.*, 2001).

Selama ini, pencegahan mau pun pengobatan terhadap penyakit *ichthyophthiriasis* dilakukan secara kemoterapi dengan menggunakan bahan kimia seperti: malachite green, formalin, methilen blue, dan kalium permanganat. Kelemahan dari pemakaian bahan kimia adalah membahayakan benih ikan karena dapat mengganggu pernafasan serta penglihatan, selain itu bahan kimia hanya membunuh stadia *theron* yang berenang bebas, tetapi tidak membunuh stadia kista, harganya mahal, berbahaya terhadap keamanan pangan dan menimbulkan pencemaran lingkungan (Wang dan Dickerson, 2002 ; Dalgaard *et al.*, 2002). Untuk menanggulangi atau mengurangi resiko penggunaan bahan kimia dilakukan tindakan pencegahan dan pengendalian dengan cara pemberian vaksin Ich, karena pemberian

vaksin dapat meningkatkan kekebalan ikan terhadap antigen yang diberikan dan tidak menimbulkan pencemaran di lingkungan perairan. Penelitian ini bertujuan mengetahui akibat imunisasi yang ditimbulkan oleh vaksinasi dengan vaksin antigen *Ich stadia theton*, terhadap px bintik putih pada ikan jambal siam

## METODE PENELITIAN

Cara mendapatkan *therton* yang dijadikan antigen adalah, pertama ikan stok yang sudah terinfeksi *Ich* secara alami dikerik lendir dari seluruh permukaan tubuh dengan menggunakan *scapel* untuk mendapatkan *stadia trophozoid*. Lendir tersebut dikultur dalam *petridish* yang telah diisi dengan akuabides. Kultur diinkubasi pada suhu ruang (23 – 25°C) selama 18-20 jam. Pembuatan vaksin *Ich* dengan metode pemanasan di penangas air pada suhu 47°C selama 30 menit mengikuti prosedur Sakai (1984), dengan demikian didapatkan vaksin sel utuh dari antigen *Ich stadia theton*. Uji viabilitas vaksin dilakukan dengan cara memeriksa satu tetes vaksin di bawah mikroskop, jika tidak ada *therton* yang bergerak atau sudah lemah maka vaksin dianggap aman.

Pemberian vaksin ke ikan uji dengan cara perendaman, caranya adalah wadah yang telah di isi air sebanyak 5l ditambahkan vaksin sesuai perlakuan ( $A_1 = 1$  ml;  $A_2 = 2$  ml;  $A_3 = 3$  ml) kepadatan sel *therton* adalah 8000 sel/ml vaksin, dan diaerasi selama 10 menit agar larutan vaksin homogen, ikan uji direndam dalam wadah yang telah diberi vaksin selama beberapa menit sesuai perlakuan ( $B_1 = 15$  menit;  $B_2 = 30$  menit; dan  $B_3 = 45$  menit). Selama perendaman tetap diaerasi agar ikan tidak kekurangan oksigen. Setelah perendaman ikan uji dipelihara dalam akuarium berukuran 60 x 40 x 40 cm dengan kepadatan ikan 10 ekor/akuarium. Ikan uji berukuran panjang 7 sampai 10 cm. Pada hari ke-15 pascaimunisasi dilakukan uji tantang dengan *therton* sebanyak 90.000 sel per akuarium. Kemudian diamati sintasan (kelulusan hidup) yang dihasilkan sampai akhir penelitian yaitu hari ke-25 pascaimunisasi.

### Rancangan Penelitian

Adapun rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap pola Faktorial, yang menjadi faktor adalah dosis dan lama waktu perendaman, masing-masing

faktor terdiri dari tiga taraf, dengan ulangan tiga kali. Adapun perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

A1B1 = Dosis vaksin 1 ml/l, waktu perendaman 15 menit

A1B2 = Dosis vaksin 1 ml/l, waktu perendaman 30 menit

A1B3 = Dosis vaksin 1 ml/l, waktu perendaman 45 menit

A2B1 = Dosis vaksin 2 ml/l, waktu perendaman 15 menit

A2B2 = Dosis vaksin 2 ml/l, waktu perendaman 30 menit

A2B3 = Dosis vaksin 2 ml/l, waktu perendaman 45 menit

A3B1 = Dosis vaksin 3 ml/l, waktu perendaman 15 menit

A3B2 = Dosis vaksin 3 ml/l, waktu perendaman 30 menit

A3B3 = Dosis vaksin 3 ml/l, waktu perendaman 45 menit.

### Analisis Data

Semua data yang didapatkan ditabulasikan dalam bentuk tabel, kemudian data sintasan dianalisis dengan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji Duncan, sedangkan data yang lainnya dibahas secara deskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Sintasan Ikan Sebelum dan Setelah Uji Tantang

Sintasan ikan uji sebelum diuji tantang adalah sintasan ikan setelah imunisasi sampai 14 hari pascaimunisasi, sedangkan sintasan setelah uji tantang adalah 15-25 hari pascaimunisasi setelah ditantang dengan *therton*. Kedua data sintasan tersebut disajikan pada Tabel 1. Tingginya angka sintasan dari ikan yang telah diberi vaksin untuk semua perlakuan adalah 100%, kecuali pada perlakuan  $A_1B_1$  (96,6%). Sintasan ikan uji setelah diberi vaksin tidak berpengaruh nyata ( $p > 0,05$ ) terhadap sintasan sampai hari ke 14. Tingginya angka sintasan ini menandakan bahwa pemberian vaksin tidak menimbulkan stres pada ikan uji.

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa angka sintasan ikan uji pada perlakuan tanpa diberi vaksin (kontrol) dan  $A_3B_3$  (pemberian vaksin dosis 3 ml/l, lama perendaman 45 menit) setelah uji tantang lebih rendah dibandingkan perlakuan lain, adanya interaksi perlakuan

Tabel 1. Persentase sintasan ikan uji sebelum dan setelah uji tantang

Perlakuan	Rata-rata sebelum uji tantang	Rata-rata setelah uji tantang
AoBo	100 <sup>a</sup> ± 0,00	46,67 <sup>c</sup> ± 5,77
A1B1	96,67 <sup>a</sup> ± 5,77	93,33 <sup>a</sup> ± 5,77
A1B2	100 <sup>a</sup> ± 0,00	96,67 <sup>a</sup> ± 5,77
A1B3	100 <sup>a</sup> ± 0,00	90,00 <sup>a</sup> ± 10,00
A2B1	100 <sup>a</sup> ± 0,00	90,00 <sup>a</sup> ± 0,00
A2B2	100 <sup>a</sup> ± 0,00	96,67 <sup>a</sup> ± 5,77
A2B3	100 <sup>a</sup> ± 0,00	100 <sup>a</sup> ± 0,00
A3B1	100 <sup>a</sup> ± 0,00	100 <sup>a</sup> ± 0,00
A3B2	100 <sup>a</sup> ± 0,00	100 <sup>a</sup> ± 0,00
A3B3	100 <sup>a</sup> ± 0,00	63,33 <sup>b</sup> ± 15,28

**Keterangan:** AoBo = Tanpa pemberian vaksin; A1B1 = Vaksin 1 ml/l, perendaman 15 menit; A1B2 = Vaksin 1 ml/l, perendaman 30 menit; A1B3 = Vaksin 1 ml/l, perendaman 45 menit. A2B1 = Vaksin 2 ml/ l, perendaman 15 menit; A2B2 = Vaksin 2 ml/ l, perendaman 30 menit; A2B3 = Vaksin 2 ml/ l, perendaman 45 menit. A3B1 = Vaksin 3 ml/ l, perendaman 15 menit; A3B2 = Vaksin 3 ml/ l, perendaman 30 menit; A3B3 = Vaksin 3 ml/ l, perendaman 45 menit

Tabel 2. Rata-rata Total Eritrosit (x 10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup>) Ikan Uji Selama Penelitian

Perlakuan	Pengukuran		
	Awal	Pertengahan	Akhir
AoBo	70,6	75,6	60,7
A1B1	75,2	92,5	106,4
A1B2	65,5	96,8	107,6
A1B3	77,1	87,3	103,2
A2B1	70,7	100,2	108,3
A2B2	69,4	85,8	105,9
A2B3	68,5	111,7	128,8
A3B1	74,3	106,5	123,5
A3B2	76,1	89,3	97,3
A3B3	75,2	107,9	69,1

**Keterangan:** Awal = sebelum perlakuan imunisasi  
 Pertengahan = hari ke 14 pascaimunisasi  
 Akhir = hari ke 25 pascaimunisasi

antara pemberian dosis dan lama waktu perendaman. Rendahnya angka sintasan pada kontrol sangat berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) antara ikan uji yang diberi vaksin dengan yang tidak diberi vaksin setelah uji tantang. Hal ini diduga karena pada ikan yang tidak diberi vaksin, membuat ikan uji tidak mampu melawan serangan Ich (*stidia theton*) pada saat dilakukan uji tantang. Sedangkan pada perlakuan A<sub>3</sub>B<sub>3</sub> diduga karena tingginya dosis yang diberikan dan lamanya waktu perendaman menyebabkan ikan menjadi stres dan kemudian dilakukan juga uji tantang, sehingga mengakibatkan stres yang berkepanjangan pada ikan uji, dengan demikian dapat menyebabkan menurunnya fungsi imun serta rentan terhadap penyakit (Conte, 2004).

Semakin tinggi dosis yang diberikan dan semakin lama waktu perendaman tidak memberikan perlindungan yang lebih baik seperti pada perlakuan A<sub>3</sub>B<sub>3</sub> (dosis 3 ml, perendaman 45 menit) setelah dilakukan uji tantang sintasanya adalah 63,3%. Namun hasil tersebut masih lebih baik apabila dibandingkan dengan perlakuan kontrol (46,6 %).

Vaksinasi adalah salah satu cara alternatif untuk memberi kekebalan kepada ikan dari serangan patogen seperti parasit Ich. Ikan yang diimunisasi dengan antigen Ich juga mendapat perlindungan terhadap serangan parasit Ich (Dickerson dan Clark, 1998; Sigh dan Buchmann, 2001; Wang dan Dickerson, 2002). Tingginya angka sintasan ikan uji yang diberi vaksin setelah diuji tantang (90 – 100%) hal ini menandakan bahwa adanya korelasi antara pemberian vaksin dengan sintasan ikan, sebaliknya ikan yang tidak diberi vaksin mengalami mortalitas yang tinggi (Xu, 2004).

**Hematologi Ikan Uji**

**Total Eritrosit.** Hasil pengukuran total eritrosit disajikan pada Tabel 2. Berdasarkan data pada Tabel 2 pada pengukuran kedua yaitu hari ke-14 pascaimunisasi terjadi peningkatan total eritrosit, hal ini merupakan suatu indikasi bahwa ikan mengalami stres yang disebabkan oleh adanya perlakuan yang diberikan sedangkan hasil pengukuran diakhir penelitian pada perlakuan A<sub>0</sub>B<sub>0</sub> dan A<sub>3</sub>B<sub>3</sub> terjadi penurunan jumlah eritrosit yang disebabkan karena ikan uji terserang parasit Ich sehingga ikan mengalami anemia. Total eritrosit yang rendah

Tabel 3. Nilai Rata-rata Hematokrit (%) dan Hemoglobin (g/dl) Ikan Uji Selama Penelitian

Perlakuan	Nilai Hematokrit (%)			Nilai Hemoglobin (g/dl)		
	Awal	Pertengahan	Akhir	Awal	Pertengahan	Akhir
AoBo	11,18	11,59	23,50	3,53	4,01	2,85
A1B1	11,11	13,89	22,40	2,98	3,24	5,82
A1B2	11,09	13,75	21,70	3,25	3,85	4,45
A1B3	11,14	13,69	20,40	3,10	4,83	6,81
A2B1	10,93	14,14	20,50	3,22	3,44	5,08
A2B2	10,25	13,69	14,95	3,41	3,29	5,20
A2B3	10,76	15,38	17,97	2,97	3,02	5,00
A3B1	10,87	12,79	18,80	3,00	3,65	5,60
A3B2	10,95	13,56	15,74	3,10	3,47	6,00
A3B3	10,65	14,73	17,00	3,30	3,81	3,03

mengindikasikan bahwa ikan mengalami anemia, sedangkan total eritrosit yang terlalu tinggi mengindikasikan ikan dalam keadaan stres (Wedemeyer, 1997).

**Hematokrit.** Hasil pengukuran kadar hematokrit selama penelitian meningkat, untuk lebih jelasnya disajikan pada Tabel 3. Adanya peningkatan kadar hematokrit pada ikan uji dari setiap kali pengukuran diduga karena adanya gangguan fisiologis di dalam tubuh ikan akibat adanya perlakuan pemberian vaksin dan lamanya perendaman serta uji tantang dengan parasit *Ich*, namun peningkatannya masih dalam batas normal. Terjadinya peningkatan nilai hematokrit berkaitan dengan meningkatnya jumlah eritrosit. Hematokrit menggambarkan proporsi besarnya jumlah sel eritrosit dalam darah ikan, dan jika dikaitkan dengan jumlah sel eritrosit maka nilai hematokrit juga dapat menggambarkan kondisi sel eritrosit. Nilai hematokrit ikan *teleostei* berkisar antara 20-30% dan untuk beberapa spesies laut bernilai sekitar 42%. Hematokrit ikan *rainbow trout* sebesar 13-42%. Nilai hematokrit dapat menggambarkan naik dan turunnya eritrosit dan hemoglobin dalam darah. Menurunnya kadar hematokrit dapat dijadikan indikator rendahnya kandungan protein pakan, defisiensi vitamin atau ikan mendapat infeksi, sedangkan meningkatnya kadar hematokrit dan eritrosit menunjukkan bahwa ikan dalam keadaan stres (Klontz 1994 dalam Johni *et al.*, 2003).

#### Kadar Hemoglobin

Pengukuran kadar hemoglobin terhadap ikan uji dilakukan tiga kali selama penelitian,

data hasil pengukuran disajikan pada Tabel 3. Hemoglobin berfungsi mengangkut oksigen dan mendistribusikannya dalam darah, pada saat darah mengalir ke seluruh tubuh, hemoglobin melepaskan oksigen ke sel dan mengikat karbondioksida. Banyaknya oksigen yang diterima oleh jaringan tergantung pada kadar dan fungsi hemoglobin yang tersedia (Johnny *et al.*, 2003). Rendahnya kadar hemoglobin pada perlakuan AoBo dan A<sub>3</sub>B<sub>3</sub> menyebabkan ikan terlihat lemah karena kurangnya oksigen yang terangkut di dalam darah, selain itu kondisi ikan uji pada ke dua perlakuan ini bertambah parah oleh adanya parasit yang menyerang sehingga menyebabkan ikan mati, dan apabila dihubungkan dengan angka sintasan maka pada kedua perlakuan ini rendah (AoBo = 46,6%) dan (A<sub>3</sub>B<sub>3</sub> = 63,3%).

#### Kualitas Air

Kualitas air selama penelitian relatif normal dan mendukung untuk kehidupan ikan uji, suhu berkisar antara 29 – 30°C, konsentrasi oksigen terlarut berkisar antara 3,74 – 4,98 ppm, dan pH 4 - 6.

#### SIMPULAN

Pemberian vaksin *Ich* dengan metode perendaman dapat meningkatkan sintasan ikan uji setelah diuji tantang dengan *Ich stadia theron* sampai 100%. Dosis vaksin yang optimal adalah 3ml/l dengan lama waktu perendaman 15 menit.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada DP2M DIKTI yang telah memberi dana melalui penelitian Hibah Bersaing 2008, Lembaga Penelitian Universitas Riau, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Univ. Riau, serta Lab. Kesehatan FPIK – IPB yang telah memfasilitasi penelitian.

### DAFTAR PUSTAKA

- Conte FS. 2004. Stress and welfare of culture fish. *Appl Anim Behav Sci* 86, 205-223.
- Dalgaard M, Buchmann K, Li A. 2002. Immunization of rainbow trout fry with *Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet). Sonicate: protection of host and immunological changes. *Bulletin of the European Association of fish Pathologist*. 22, 287 – 297.
- Dickerson H, Clark T. 1998. *Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet) a model of cutaneous infection and immunity in fishes. *Immunological Reviews* 166, 377 – 384.
- Elsayed EE, Ezz El Dien N, Mahmoud MA. 2006. Ichthyophthiriasis: Various fish susceptibility or presence of more than one strain of the parasite. *Nature and Science* 4 (3) : 5 – 13.
- Johnny F, Zafran, Rosa D, Mahardika K. 2003. Hematologis beberapa spesies ikan laut budidaya. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. 9 : 4.
- Sakai DK. 1984. Opsonization by fish antibody and complement in the immune phagocytosis by peritoneal exudates cells from salmoned fish. *J Fish* 7: 29 – 38.
- Sigh J, Buchmann K. 2001. Comparison of immobilization assays and enzyme linked immunosorbent assays for detection of rainbow trout antibody – titres against *Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet). *Journal of Fish Diseases* 24. 49 – 51.
- Tumbol RA, Powell MD, Nowak BF. 2001. Ionic effects of infection of *Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet) in gold fish. *Journal of Aquatic Animal Health* 13. 20 – 26.
- Wang X, Dickerson HW. 2002. Surface immobilization antigen of the parasitic ciliate *Ichthyophthirius multifiliis* elicits protective immunity in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 9 (1) 176 – 181.
- Wedemeyer GA. 1997. Fish Stress and Health in Intensive Culture Society for Experimental Biology Seminar Series. 62. Cambridge. Cambridge Uni Press.
- Xu DH, Klesius PH, Shelby RA. 2004. Immune responses and host protection of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, against *Ichthyophthirius multifiliis* after immunization with live theronts and sonicated trophonts. *Journal of Fish Diseases* 27 : 135 – 141.