

## EFIKASI VAKSIN *Aeromonas hydrophila* TERHADAP IMUNITAS IKAN LELE SANGKURIANG (*Clarias gariepinus*) DENGAN METODE INFILTRASI HIPEROSMOTIK

Anis Zubaidah<sup>#</sup>, Yussandra Khartika Sari, Sri Dwi Hastuti, dan Hany Handajani

Program Studi Akuakultur, Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang, Jalan Raya Tlogomas No. 246, Tlogomas, Lowokwaru, Tegalondo, Kota Malang 65144, Jawa Timur

(Naskah diterima: 04 Januari 2024; Revisi final: 20 Mei 2024; Disetujui publikasi: 20 Mei 2024)

### ABSTRAK

Kendala yang sering dialami pembudidaya ikan lele salah satunya yaitu serangan motile *Aeromonas septicemia* (MAS). Vaksinasi melalui perendaman merupakan cara yang efektif untuk meningkatkan sistem imun pada tubuh ikan lele, namun kurang memberikan hasil yang optimal sehingga perlu adanya penambahan metode infiltrasi hiperosmotik untuk memaksimalkan penyerapan vaksin. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kisaran salinitas yang baik dalam memaksimalkan penyerapan vaksin *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental rancangan acak lengkap dengan lima taraf perlakuan dan tiga kali ulangan, antara lain kontrol negatif (Kn), kontrol positif (Kp), perendaman salinitas 3 ppt (P1), perendamansalinitas 6 ppt (P2), dan perendaman salinitas 9 ppt (P3) pada ikan lele berukuran 12-15 cm. Parameter yang diamati antara lain titer antibodi, *relative percent survival*, *survival rate* (SR), total eritrosit, total leukosit, kualitas air, dan gejala klinis. Hasil penelitian menunjukkan nilai tertinggi yaitu pada P2 (6 ppt) dengan nilai titer antibodi sebesar  $8,0 \pm 0,0$ , *relative percent survival* 100%, *survival rate* 100%, dan total eritrosit  $2,80 \times 10^6$  sel  $\text{mm}^{-3}$ , namun total leukosit pada P2 (6 ppt) menunjukkan nilai terendah karena leukosit melawan serangan patogen sehingga jumlah sel menurun. Disimpulkan bahwa perendaman dalam salinitas 6 ppt merupakan salinitas terbaik pada ikan lele dan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan perlakuan lainnya karena proses penyerapan vaksin terjadi secara maksimal sehingga dapat meningkatkan sistem imun ikan lele.

**KATA KUNCI:** osmoregulasi; perendaman; salinitas; vaksinasi

**ABSTRACT:** *Efficacy of Aeromonas hydrophila Vaccine on Immunity of Sangkuriang Catfish (Clarias gariepinus) Using the Hyperosmotic Infiltration Method*

*One of the obstacles often experienced by catfish farmers is attacks by the motile Aeromonas septicemia (MAS). Vaccination through immersion is an effective way to improve the immune system in the body of catfish, but it does not provide optimal results so it is necessary to add a hyperosmotic infiltration method to maximize vaccine absorption. This study aimed to determine an optimum salinity range to maximize the absorption of the Aeromonas hydrophila vaccine in catfish. This study used a completely randomized design experimental method with five treatment levels and three replications, including negative control (Kn),*

---

<sup>#</sup>Korespondensi: Program Studi Akuakultur, Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang, Kota Malang 65144, Jawa Timur  
Email: aniszubaidah@umm.ac.id

positive control (Kp), 3 ppt salinity immersion (P1), 6 ppt salinity immersion (P2), and 9 ppt salinity immersion (P3) in catfish sizing 12-15 cm. The parameters observed included antibody titer, relative percent survival, survival rate (SR), total erythrocytes, total leukocytes, water quality, and clinical symptoms. The results of the study showed that the highest value was at P2 (6 ppt) with an antibody titer value of  $8.0 \pm 0.0$ , relative percent survival 100%, survival rate 100%, and total erythrocytes  $2.80 \times 10^6$  cells  $\text{mm}^{-3}$ , while total leukocytes in P2 (6 ppt) showed the lowest value because leukocytes fought against pathogen attacks so that the number of cells decreased. It was concluded that immersion in 6 ppt salinity was the best salinity for catfish and was significantly different ( $P < 0.05$ ) from other treatments because the vaccine absorption process occurred optimally so that it could improve the catfish's immune system.

**KEYWORDS:** immersion; osmoregulation; salinity; vaccination

## PENDAHULUAN

Ikan lele merupakan salah satu komoditas sumber protein hewani yang banyak diminati di Indonesia. Jumlah permintaan ikan lele cukup tinggi, namun produksi perikanan budidaya nasional masih mengalami kendala akibat serangan penyakit *motile Aeromonas septicemia* (MAS). *Motile Aeromonas septicemia* (MAS) disebabkan oleh infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Penyakit ini biasa menyerang ikan air tawar, seperti ikan nila, ikan gurami, dan ikan lele. Menurut Mastuti *et al.* (2017), serangan bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan kematian hingga 100% dalam kurun waktu 3 hari. Pengobatan penyakit MAS dengan menggunakan obat serta bahan kimia sudah mulai ditinggalkan, karena pemberian antibiotik terus menerus dapat mengakibatkan resistensi bakteri terhadap jenis antibiotik tersebut. Selain itu, efek samping pemberian antibiotik dapat meninggalkan residu yang nantinya akan membahayakan manusia dan lingkungan (Azhar & Wirasisya, 2019). Maka dari itu vaksinasi pada ikan perlu dilakukan sejak dini untuk mencegah terjadinya infeksi penyakit khususnya bakteri *A. hydrophila* pada ikan lele.

Vaksinasi merupakan cara yang efektif dan efisien untuk mengobati penyakit pada ikan serta meningkatkan sistem imun tubuh ikan Sukenda *et al.* (2015). Metode vaksinasi dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu injeksi,

oral, dan perendaman. Vaksinasi dengan cara injeksi lebih efektif untuk ikan ukuran tertentu dan sulit dilakukan pada benih. Vaksinasi oral dalam pakan merupakan metode yang memerlukan antigen dalam jumlah besar dan proteksi yang ditimbulkan bersifat lemah. Vaksinasi dengan metode perendaman mudah dilakukan dalam skala besar, biaya relatif murah, tingkat stres ikan yang diberi vaksin relatif rendah, dan mudah dilakukan pada ikan berukuran benih. Metode vaksinasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode perendaman.

Modifikasi cara perendaman perlu dikembangkan agar penyerapan vaksin dapat terjadi secara optimal, metode yang dapat digunakan adalah infiltrasi hiperosmotik. Menurut Firdausi *et al.* (2018), dalam penelitiannya pada ikan nila menyatakan bahwa metode infiltrasi hiperosmotik dapat memperbaiki kinerja sistem imun dengan memperbaiki proteksi imunitas maternal. Metode ini menggunakan media perlakuan hipertonik yaitu konsentrasi cairan lingkungan lebih tinggi dibandingkan konsentrasi cairan tubuh ikan dengan memberikan kejutan salinitas. Akibatnya, membran-membran di permukaan tubuh terbuka dan cairan tubuh keluar kemudian digantikan dengan cairan yang mengandung vaksin. Prananingtyas *et al.* (2019) menyebutkan bahwa ikan lele masih mampu hidup pada salinitas 0-9 ppt. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian

perendaman ikan dalam salinitas 3, 6, dan 9 ppt sebelum vaksinasi sehingga didapatkan salinitas yang optimum dalam meningkatkan penyerapan vaksin. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas vaksin dengan metode infiltrasi hiperosmotik dengan salinitas berbeda untuk mencegah infeksi bakteri *A. hydrophila* pada ikan lele.

## BAHAN DAN METODE

### Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan September-Oktober 2022 di Laboratorium Perikanan, Universitas Muhammadiyah Malang. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*) dengan ukuran bobot  $15 \pm 1,2$  g dan panjang  $12 \pm 0,56$  cm sebanyak 150 ekor yang diperoleh dari pembudidaya ikan di Desa Tegalondo, Kabupaten Malang, Provinsi Jawa Timur.

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap. Penelitian ini terdapat lima taraf perlakuan dengan masing-masing tiga ulangan sehingga total data yang diamati adalah 15 unit. Setiap akuarium berisi 10 ekor ikan lele. Perlakuan yang diberikan yaitu sebagai berikut:

Kn = Tanpa vaksin + tanpa ujiantang

Kp = Tanpa vaksin + ujiantang

P1 = Perendaman salinitas 3 ppt + vaksin + ujiantang

P2 = Perendaman salinitas 6 ppt + vaksin + ujiantang

P3 = Perendaman salinitas 9 ppt + vaksin + ujiantang

### Penyiapan Bakteri Patogen dan Vaksin

Sebelum pembuatan vaksin sel utuh, bakteri *A. hydrophila* dikultur pada media *trypticase soy agar* (TSA) yang ditambahkan antibiotik rifampisin  $15 \mu\text{g L}^{-1}$  sebagai penanda (Hamka *et al.*, 2021). Bakteri yang tumbuh pada media tersebut selanjutnya dikultur ke dalam media *trypticase soy broth*

(TSB), dan diuji Postulat Koch, yaitu dengan menyuntikkan 0,1 mL suspensi *A. hydrophila* secara intramuskular pada ikan lele sehat. Metode ini diulang sebanyak dua kali. Bakteri diisolasi dari bagian yang luka, selanjutnya bakteri ditumbuhkan dengan metode gores cawan pada media *nutrient agar* (NA) yang diberi antibiotik rifampisin sebanyak  $15 \mu\text{g L}^{-1}$ , lalu dikultur selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Pembuatan vaksin dilakukan dengan cara mengkultur bakteri secara bertingkat pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  pada *nutrient broth* (NB) pada kecepatan 120 rpm sehingga didapatkan 100 mL bakteri (Azzahra *et al.*, 2021). Biakan bakteri dengan volume 100 mL ditambahkan *neutral buffer formaline* sebanyak 3% dari volume biakan dan diinkubasi kembali selama 24 jam. Bakteri dipanen dengan cara disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm selama 30 menit. Endapan pelet bakteri kemudian dicuci menggunakan 100 mL *phosphate buffer saline* (PBS) sebanyak tiga kali dan disentrifugasi pada kecepatan 5.000 rpm selama 15 menit. Endapan pelet kemudian ditambahkan kembali PBS hingga 100 mL dan disimpan pada *refrigerator*, dan selanjutnya disebut sebagai vaksin sel utuh (Reynalta *et al.* (2018). Vaksin yang telah jadi tersebut selanjutnya diuji viabilitasnya dengan cara ditumbuhkan dengan metode gores cawan pada media NA yang diberi antibiotik rifampisin sebanyak  $15 \mu\text{g L}^{-1}$ , jika tidak terjadi pertumbuhan bakteri setelah 24 jam pada media tersebut, vaksin aman digunakan (Suprpto *et al.*, 2017).

### Vaksinasi Ikan Uji dan Uji Tantang

Sebelum dilakukan vaksinasi, ikan terlebih dahulu direndam dalam media bersalinitas (air tawar ditambahkan dengan garam grosok sesuai dengan perlakuan) 3, 6, dan 9 ppt selama 5 menit dengan padat tebar 2 ekor  $\text{L}^{-1}$ . Selanjutnya ikan dipindahkan dalam larutan vaksin dengan perbandingan 3 mL dalam 1 L air tawar selama 30 menit dengan padat tebar 5 ekor  $\text{L}^{-1}$  (Hidayatullah *et al.* 2022). Uji tantang dilakukan pada hari ke-15 (H15) pascavaksinasi. Uji tantang dilakukan dengan

menginjeksikan 0,1 mL bakteri *A. hydrophila* per ekor dengan kepadatan bakteri  $10^7$  CFU mL<sup>-1</sup> secara intramuskular. Setelah ujiantang, ikan dipelihara selama 15 hari (H30).

### Pengukuran Total Eritrosit dan Leukosit

Pengamatan total eritrosit mengacu pada Zissalwa *et al.* (2020), dilakukan dengan mengambil sampel darah menggunakan pipet *haemocytometer* berbulir merah sampai skala 0.5, kemudian menghisap larutan Hayem sampai skala 101, menghomogenkan sampel dengan cara menggoyang pipet membentuk angka 8. Satu sampai tiga tetes pertama dibuang, selanjutnya sampel diteteskan ke dalam *haemocytometer* dan ditutup dengan kaca penutup, kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Perhitungan dilakukan pada lima kotak kecil *haemocytometer* dengan faktor pengenceran 200x. Rumus 1 merupakan rumus perhitungan total eritrosit menurut Firly (2015) yaitu:

$$\text{Eritrosit} = (A/N) \times (1/V) \times Fp \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan:

- A :  $\sum$  sel terhitung
- N :  $\sum$  kotak *haemocytometer* yang diamati
- V : Volume kotak *haemocytometer*
- Fp : Faktor pengenceran

Pengamatan total leukosit dilakukan dengan mengambil sampel darah menggunakan pipet *haemocytometer* berbulir putih sampai skala 0.5, kemudian menghisap larutan Turk sampai skala 11, menghomogenkan larutan dengan cara menggoyangkan dengan membentuk angka 8. Membuang 1-3 tetesan pertama, selanjutnya meneteskan sampel ke dalam *haemocytometer* dan menutupnya dengan kaca penutup, kemudian sampel diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Perhitungan dilakukan pada empat kotak besar *haemocytometer* dengan faktor pengenceran 20x menggunakan rumus 2 sebagai berikut:

$$\text{Leukosit} = (A/N) \times (1/V) \times Fp \dots\dots\dots (2)$$

Keterangan:

- A :  $\sum$  sel terhitung
- N :  $\sum$  kotak *haemocytometer* yang diamati
- V : Volume kotak *haemocytometer*
- Fp : Faktor pengenceran

### Pengukuran Titer Antibodi

Pengamatan titer antibodi mengacu pada Mulia *et al.* (2015) untuk mengevaluasi efikasi vaksin yang diberikan pada ikan lele. Pengamatan titer antibodi dilakukan dengan mengambil sampel darah kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3.500 rpm selama 5 menit. Setelah serum terpisah dengan sel darah, serum dipindahkan ke tabung *ependorf* selanjutnya disimpan dalam *refrigerator* pada suhu 4°C untuk pengamatan titer antibodi. Pengukuran titer antibodi dilakukan dengan mengambil larutan PBS sebanyak 25  $\mu$ L dan dimasukkan ke dalam *microplate* pada sumur 2-12, selanjutnya dimasukkan serum darah pada sumur 1 dan 2 sebanyak 25  $\mu$ L, kemudian dilakukan pengenceran bertingkat dari sumur ke-2 hingga sumur ke-11. Bakteri sebanyak 25  $\mu$ L dimasukkan ke dalam sumur 1-12, campuran dihomogenkan dengan cara menggoyangkan *microplate* secara perlahan dan selanjutnya disimpan selama 24 jam. Titer antibodi dapat dilihat pada sumur terakhir yang masih ditemukan reaksi aglutinasi yaitu berupa adanya perubahan warna berwarna putih keruh.

### Pengamatan *Relative Percent Survival* dan Tingkat Kelulushidupan

*Relative percent survival* (RPS) merupakan nilai proporsi mortalitas antara kelompok ikan yang divaksin dengan kontrol selama periode ujiantang (*challenge*). *Relative percent survival* dihitung untuk mengetahui efektivitas vaksin yang diberikan pasca ujiantang. Rumus perhitungan RPS (rumus 3) mengacu pada penelitian Tauhid (2015):

$$RPS = \left( 1 - \frac{\text{Persentase mortalitas perlakuan}}{\text{Persentase mortalitas kontrol}} \right) \times 100 \% \dots\dots\dots (3)$$

*Survival rate* (SR) atau tingkat kelulushidupan dihitung berdasarkan persentase perbandingan jumlah ikan yang hidup di akhir penelitian dengan jumlah ikan pada saat awal penebaran. Rumus perhitungan SR (rumus 4) mengacu pada penelitian Hidayatullah *et al.* (2022):

$$SR = \frac{\text{Jumlah ikan hidup}}{\text{Jumlah Populasi}} \times 100\% \dots\dots\dots(4)$$

**Pengamatan Gejala Klinis**

Pengamatan gejala klinis diamati setiap hari pascauji tangkang hingga akhir pemeliharaan (H30). Gejala klinis yang diamati meliputi respons terhadap pakan, tingkah laku serta patologi makroskopis kulit dan sirip ikan lele.

**Pengukuran Kualitas Air**

Pengukuran suhu dilakukan setiap hari pada pukul 07:00 dan 17:00 WIB. Pengukuran pH dan oksigen terlarut dilakukan sebanyak enam kali selama pemeliharaan, yaitu setiap pergantian air.

**Analisis Data**

Hasil pengamatan kemudian ditabulasi dengan Microsoft Excel dan dianalisis secara statistik setiap waktu pengamatan. Analisis data menggunakan *one way*-ANOVA melalui program SPSS versi 16 dengan selang kepercayaan 95%. Perbedaan antarperlakuan dianalisis dengan uji Duncan.

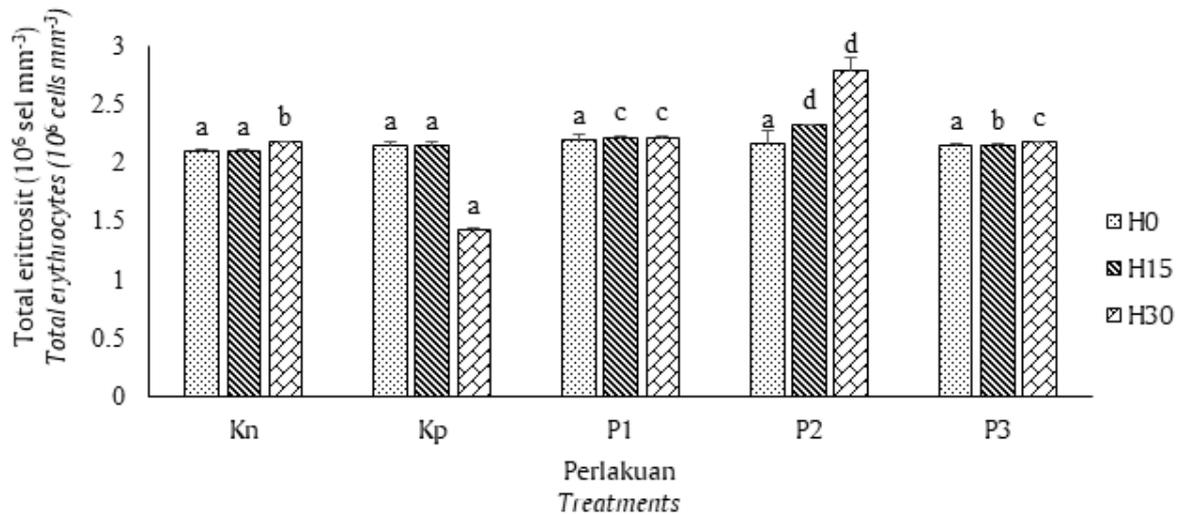
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Total Eritrosit dan Leukosit**

Hasil pengukuran jumlah total eritrosit pada awal penelitian sampai akhir berkisar antara  $1,42 \pm 0,03$  hingga  $2,80 \pm 0,11 \times 10^6$  sel  $\text{mm}^{-3}$ . Total eritrosit tersebut menunjukkan nilai yang normal untuk ikan lele. Menurut Tiamiyu *et al.* (2019), kisaran normal total

eritrosit pada ikan lele, yaitu  $1,5-2,9 \times 10^6$  sel  $\text{mm}^{-3}$ . Total eritrosit pada perlakuan P1, P2, dan P3 menunjukkan hasil yang berbeda. Hal ini diduga karena adanya perbedaan perendaman salinitas yang diberikan sebelum vaksinasi, sehingga berpengaruh terhadap penyerapan vaksin. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa pengukuran total eritrosit pada awal penelitian (H0) tidak berbeda nyata antarperlakuan ( $P > 0,05$ ) dengan nilai berkisar antara  $2,13 \pm 0,02$  hingga  $2,29 \pm 0,02 \times 10^6$  sel  $\text{mm}^{-3}$ , namun setelah perendaman dalam media bersalinitas sebelum vaksinasi memberikan pengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap total eritrosit. Nilai total eritrosit paling tinggi terdapat pada perlakuan P2 (6 ppt) hari ke-30 yaitu  $2,80 \pm 0,11 \times 10^6$  sel  $\text{mm}^{-3}$  dan paling rendah terdapat pada perlakuan kontrol positif hari ke-30 yaitu  $1,42 \pm 0,03 \times 10^6$  sel  $\text{mm}^{-3}$ . Rendahnya total eritrosit pada perlakuan kontrol positif diduga karena *A. hydrophila* telah menginfeksi ikan lele sehingga terjadi hemoragi pada tubuh ikan yang menyebabkan pendarahan dan nilai total eritrosit menurun. Hal ini selaras dengan pernyataan Cerlina *et al.* (2021) yang menyatakan bahwa penurunan sel darah merah diduga akibat ikan mengalami anemia yang ditandai dengan adanya pendarahan karena *A. hydrophila* memproduksi eksotoksin berupa hemolisin. Hemolisin merupakan enzim yang mampu melisiskan sel-sel darah merah dan membebaskan hemoglobinya. Nilai eritrosit pada perlakuan P1, P2, dan P3 masih dalam kisaran normal pascainfeksi. Hal ini menunjukkan bahwa vaksin terserap dengan baik sehingga sistem imun tubuh ikan dapat bekerja lebih optimal dan memproduksi eritrosit lebih banyak untuk menggantikan sel eritrosit yang keluar akibat pendarahan. Nilai total eritrosit dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil pengukuran jumlah total leukosit pada awal penelitian sampai akhir berkisar antara  $(7,69 \pm 0,02$  hingga  $10,13 \pm 0,04) \times 10^4$  sel  $\text{mm}^{-3}$ . Total leukosit tersebut menunjukkan nilai yang normal untuk ikan lele. Menurut Purwanti *et al.* (2014), jumlah sel darah putih (leukosit) tiap  $\text{mm}^3$  darah ikan berkisar 20.000-

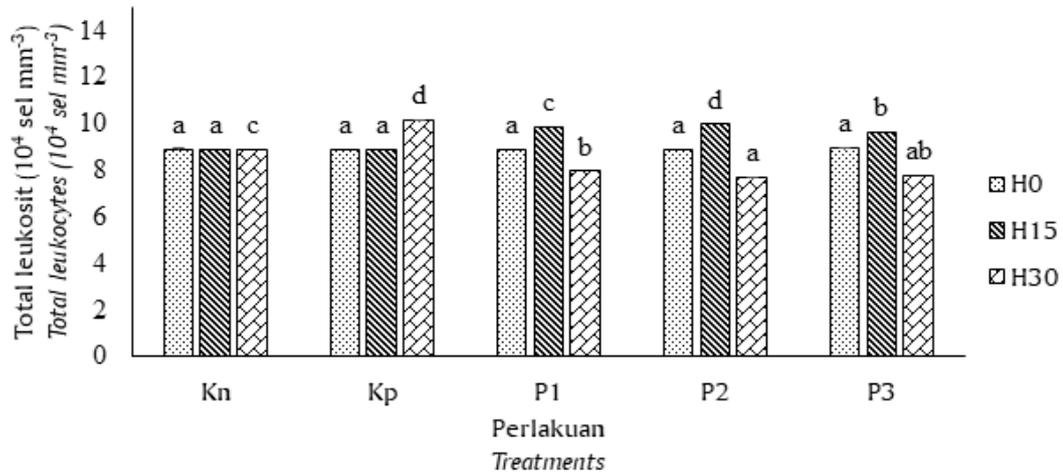


Gambar 1. Total eritrosit pada ikan lele yang diberi perlakuan vaksin dengan metode infiltrasi hiperosmotik. Kn = tanpa vaksin + tanpa uji tantang; Kp = tanpa vaksin + uji tantang; P1 = perendaman salinitas 3 ppt + vaksin + uji tantang; P2 = perendaman salinitas 6 ppt + vaksin + uji tantang; dan P3 = perendaman salinitas 9 ppt + vaksin + uji tantang. Huruf superskrip menunjukkan perbedaan antarperlakuan dalam waktu yang sama ( $P < 0,05$ )

Figure 1. Total erythrocytes in catfish treated with vaccine using the hyperosmotic infiltration method. Kn = no vaccine + no challenge test; Kp = no vaccine + challenge test; P1 = immersion in 3 ppt salinity + vaccine + challenge test; P2 = immersion in 6 ppt salinity + vaccine + challenge test; and P3 = immersion in 9 ppt salinity + vaccine + challenge test. Superscript letters indicate differences among treatments at the same time ( $P < 0,05$ )

150.000 butir. Berdasarkan data pada Gambar 2, diketahui bahwa nilai total leukosit paling tinggi terdapat pada perlakuan positif hari ke-30 yaitu  $10,13 \pm 0,04 \times 10^4$  sel  $\text{mm}^{-3}$  dan paling rendah terdapat pada perlakuan P2 (6 ppt) hari ke-30 yaitu  $7,69 \pm 0,02 \times 10^4$  sel  $\text{mm}^{-3}$ . Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa pengukuran total leukosit pada awal penelitian (H0) tidak berbeda nyata antar perlakuan ( $P > 0,05$ ) dengan nilai berkisar antara  $(8,90 \pm 0,05$  hingga  $8,96 \pm 0,02) \times 10^4$  sel  $\text{mm}^{-3}$ , namun pada H15 dan H30 berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) antara kontrol positif dengan P1, P2, dan P3. Hari ke-15 pascavaksinasi, total leukosit mengalami peningkatan pada P1, P2, dan P3. Hal ini menunjukkan bahwa perendaman salinitas 3, 6, dan 9 ppt dapat membantu ikan dalam proses penyerapan vaksin yang lebih optimal, sehingga nilai total leukosit meningkat. Menurut Firly *et al.*

(2015), peningkatan sel leukosit dikarenakan refleksi keberhasilan sistem imun ikan dalam meningkatkan respons imun seluler untuk imunitas tubuh. Hidayatullah *et al.* (2022) juga mengatakan bahwa peningkatan leukosit pada saat pra uji tantang disebabkan oleh pengaruh pemberian vaksin, sehingga peningkatan konsentrasi leukosit berdampak positif untuk pembentukan antibodi sehingga menunjukkan adanya respons perlawanan tubuh terhadap zat asing (Purwanti *et al.*, 2014). Hari ke-15 pascapuji tantang (H30), total leukosit mengalami penurunan. Hal ini diduga karena aktivitas patogen menurun sehingga total leukosit juga ikut menurun, namun pada kontrol positif, total leukosit masih mengalami peningkatan. Hal ini diduga karena serangan patogen masih berlangsung sehingga total leukosit yang didapat masih tinggi. Hal ini selaras dengan Pattipeiluhu *et al.*, (2022) yang mengatakan



Gambar 2. Total leukosit pada ikan lele yang diberi perlakuan vaksin dengan metode infiltrasi hiperosmotik. Kn = tanpa vaksin + tanpa uji tantang; Kp = tanpa vaksin + uji tantang; P1 = perendaman salinitas 3 ppt + vaksin + uji tantang; P2 = perendaman salinitas 6 ppt + vaksin + uji tantang; dan P3 = perendaman salinitas 9 ppt + vaksin + uji tantang. Huruf superskrip menunjukkan perbedaan antarperlakuan dalam waktu yang sama ( $P < 0,05$ )

Figure 2. Total leukocytes in catfish treated with vaccine using the hyperosmotic infiltration method. Kn = no vaccine + no challenge test; Kp = no vaccine + challenge test; P1 = immersion in 3 ppt salinity + vaccine + challenge test; P2 = immersion in 6 ppt salinity + vaccine + challenge test; and P3 = immersion in 9 ppt salinity + vaccine + challenge test. Superscript letters indicate differences among treatments at the same time ( $P < 0,05$ )

bahwa peningkatan total leukosit disebabkan tubuh ikan bertahan dari adanya infeksi yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*. Menurut Resmawati *et al.* (2016), peningkatan jumlah sel darah putih ini merupakan respons dalam bentuk proteksi terhadap adanya sel asing termasuk adanya infeksi bakteri yang masuk ke tubuh ikan. Leukosit berperan penting dalam sistem kekebalan tubuh terutama merusak bahan-bahan infeksius dan toksik melalui proses fagositosis dengan cara membentuk antibodi (Maryani *et al.*, 2021). Nilai total leukosit dapat dilihat pada Gambar 2.

### Titer Antibodi

Berdasarkan hasil pengamatan, titer antibodi tertinggi terdapat pada perlakuan P2 hari ke-30 yaitu sebesar  $8,0 \pm 0,0$  dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya ( $P < 0,05$ ), sedangkan titer antibodi terendah terdapat pada perlakuan kontrol negatif

dan positif masing-masing  $0,0 \pm 0,0$  dan  $2,0 \pm 0,0$ . Berdasarkan hasil data tersebut dapat diketahui bahwa vaksinasi mampu meningkatkan antibodi ikan, sehingga ikan dapat melawan antigen yang masuk ke dalam tubuh. Hidayatullah *et al.* (2022) mengatakan bahwa titer antibodi menggambarkan nilai antibodi dalam tubuh ikan, semakin besar nilai antibodi ikan maka semakin baik ikan dalam melawan serangan patogen. Titer antibodi belum muncul pada awal penelitian, namun setelah uji tantang (H15) nilai titer antibodi terus meningkat sampai pasca uji tantang (H30) pada perlakuan P1, P2, dan P3 dengan nilai masing-masing yaitu  $5,0 \pm 0,0$ ,  $8,0 \pm 0,0$ , dan  $4,6 \pm 0,5$ . Peningkatan titer antibodi mengindikasikan adanya respons terhadap pemberian vaksin (antigen) yang diinjeksikan ke dalam tubuh ikan uji (Nugroho *et al.*, 2019). Hal ini diduga bahwa titer antibodi terbentuk ketika tubuh mulai mengenali antigen yang masuk, jika tidak ada antigen yang

menyerang tubuh ikan, maka antibodi spesifik belum terbentuk. Hidayatullah *et al.* (2022) juga mengatakan bahwa titer antibodi tidak ditemukan pada perlakuan kontrol negatif hingga akhir pemeliharaan. Titer antibodi ikan uji selama penelitian dapat diuraikan pada Tabel 1.

**Relative Percent Survival dan Tingkat Kelulushidupan**

Hasil pengamatan tingkat kelangsungan hidup relatif atau *relative percent survival* menunjukkan bahwa perendaman dalam media bersalinitas sebelum vaksinasi memberikan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). *Relative percent survival* tertinggi terdapat pada perlakuan P2 (6 ppt) yaitu sebesar  $100 \pm 0,00\%$  dan berbeda nyata dengan perlakuan P1 (3 ppt) dan P3 (9 ppt) dengan masing-masing nilai sebesar  $89,3 \pm 9,23\%$  dan  $84 \pm 0,00\%$ . Berdasarkan data tersebut diketahui bahwa perlakuan P2 (6 ppt) memberikan tingkat

kelangsungan hidup relatif yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Hal ini diduga bahwa perendaman dalam media bersalinitas 6 ppt sebelum vaksinasi dapat meningkatkan penyerapan vaksin paling optimal daripada perendaman dalam media bersalinitas 3 dan 9 ppt. Menurut Tauhid *et al.* (2018), vaksin ikan dianggap efektif apabila memiliki nilai RPS minimal sebesar 50% jika diberikan melalui perendaman. Pemberian vaksin pada perlakuan P1, P2, dan P3 dapat dikatakan sudah efektif karena memberikan proteksi terhadap ikan lele lebih dari 50%. Dari hasil yang didapat memperlihatkan bahwa ada kemampuan spesifik dari vaksin dalam mencegah infeksi patogen. Nilai RPS yang dihasilkan oleh ikan lele menunjukkan bahwa dengan pemberian vaksin dapat meningkatkan respons imun dengan cara membentuk antibodi sehingga ikan lebih tahan terhadap serangan bakteri *A. hydrophila* pada saat ujiantang. Hal ini selaras dengan Reynalta *et al.* (2018) yang mengatakan bahwa peningkatan kekebalan tubuh pada ikan yang divaksin

Tabel 1. Titer antibodi ikan lele yang diberi vaksin dengan metode infiltrasi hiperosmotik  
 Table 1. Titer antibody of catfish given the vaccine using the hyperosmotic infiltration method

Perlakuan Treatments	Hari ke- Day		
	H0	H15	H30
Kn	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$
Kp	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$	$2,0 \pm 0,0^b$
P1	$0,0 \pm 0,0^a$	$4,3 \pm 0,5^b$	$5,0 \pm 0,0^c$
P2	$0,0 \pm 0,0^a$	$6,0 \pm 0,0^d$	$8,0 \pm 0,0^d$
P3	$0,0 \pm 0,0^a$	$4,0 \pm 0,0^c$	$4,6 \pm 0,5^c$

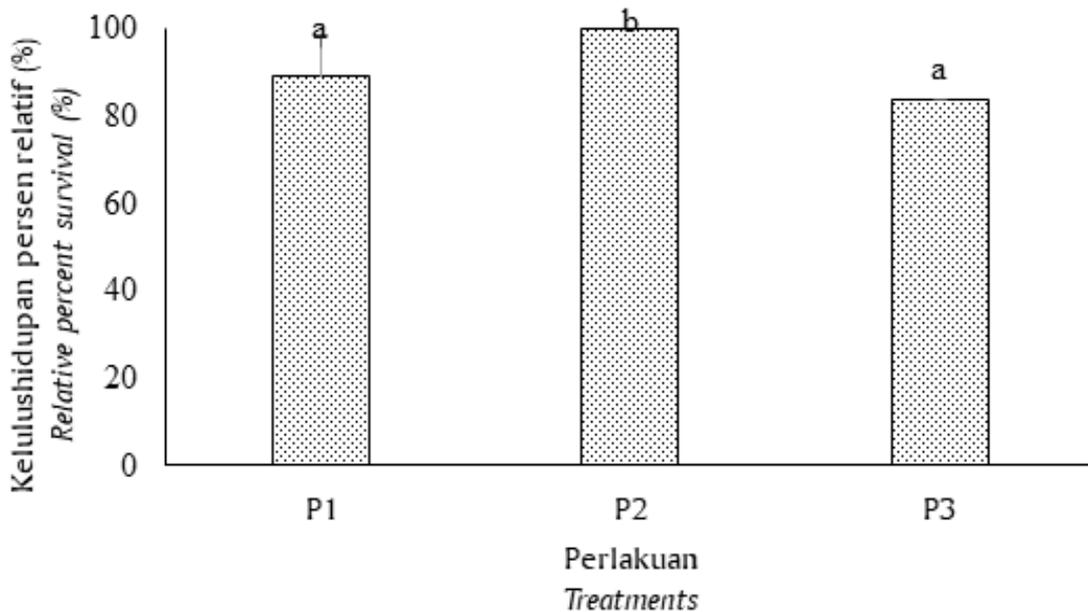
Keterangan: Kn = tanpa vaksin + tanpa ujiantang; Kp = tanpa vaksin + ujiantang; P1 = perendaman salinitas 3 ppt + vaksin + ujiantang; P2 = perendaman salinitas 6 ppt + vaksin + ujiantang; dan P3 = perendaman salinitas 9 ppt + vaksin + ujiantang). Huruf superskrip menunjukkan perbedaan antarperlakuan dalam waktu yang sama ( $P < 0,05$ )

Description: Kn = no vaccine + no challenge test; Kp = no vaccine + challenge test; P1 = immersion in 3 ppt salinity + vaccine + challenge test; P2 = immersion in 6 ppt salinity + vaccine + challenge test; and P3 = immersion in 9 ppt salinity + vaccine + challenge test). Superscript letters indicate differences among treatments at the same time ( $P < 0,05$ )

mengindikasikan adanya pengaktifan respons imun spesifik terhadap bakteri. Nilai *relative percent survival* dapat dilihat pada Gambar 3.

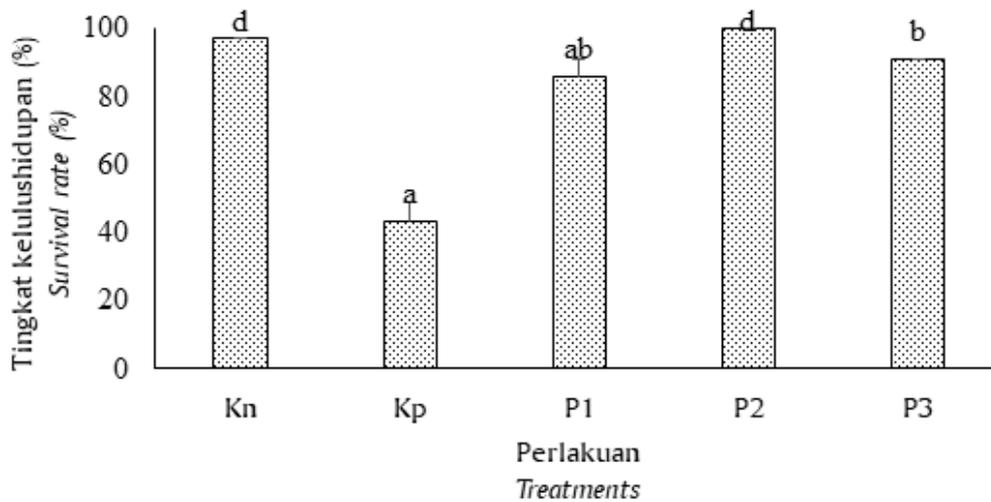
Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan Kn (kontrol negatif) dan P2 (6 ppt) berbeda nyata dengan perlakuan Kp (kontrol positif), sedangkan perlakuan P1 dan P3 tidak beda nyata terhadap *survival rate* ikan lele. Tingkat kelulushidupan ikan lele selama penelitian yaitu antara  $43,3 \pm 5,7$  hingga  $100 \pm 0,00\%$ , di mana tingkat kelulushidupan tertinggi terdapat pada perlakuan P2 (6 ppt), yaitu sebesar 100%, sedangkan yang terendah pada perlakuan kontrol positif sebesar  $43,3 \pm 5,7\%$ . Hasil tersebut menunjukkan bahwa perendaman ikan uji pada salinitas 6 ppt sebelum vaksinasi dapat membantu penyerapan vaksin dengan baik sehingga mampu meningkatkan stimulus ikan dan memberikan

nilai *survival rate* yang tinggi. Nilai *survival rate* pada perlakuan yang diberi vaksin lebih tinggi daripada kontrol. Hal ini diduga karena ikan hanya mengandalkan sistem imun nonspesifik yang terdapat pada tubuhnya sendiri. Semakin tinggi nilai *survival rate* yang diperoleh maka semakin baik efikasi vaksin dalam melawan serangan patogen. Menurut Yusuf *et al.* (2021) dalam penelitiannya mengatakan bahwa hasil uji vaksin yang diberikan secara perendaman mampu meningkatkan level antibodi dan daya *memorizing* pada antigen yang masuk. Dari hal tersebut dapat disimpulkan bahwa tubuh ikan yang diberi vaksin akan mengenali antigen yang masuk ke dalam tubuh dengan tujuan bila suatu saat ada patogen yang menyerang, ikan telah memiliki antibodi untuk melawan patogen tersebut. Nilai *survival rate* ikan uji selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 3. Kelulushidupan persen relatif ikan lele yang diberi perlakuan vaksin dengan metode infiltrasi hiperosmotik. P1 = perendaman salinitas 3 ppt + vaksin + uji tantang; P2 = perendaman salinitas 6 ppt + vaksin + uji tantang; dan P3 = perendaman salinitas 9 ppt + vaksin + uji tantang. Huruf superskrip menunjukkan perbedaan antarperlakuan ( $P < 0,05$ )

Figure 3. Relative percent survival of catfish treated with vaccine using the hyperosmotic infiltration method. Kn = no vaccine + no challenge test; Kp = no vaccine + challenge test; P1 = immersion in 3 ppt salinity + vaccine + challenge test; P2 = immersion in 6 ppt salinity + vaccine + challenge test; and P3 = immersion in 9 ppt salinity + vaccine + challenge test. Superscript letters indicate differences among treatments ( $P < 0,05$ )



Gambar 4. Tingkat kelulushidupan ikan lele yang diberi perlakuan vaksin dengan metode infiltrasi hiperosmotik. Kn = tanpa vaksin + tanpa uji tantang; Kp = tanpa vaksin + uji tantang; P1 = perendaman salinitas 3 ppt + vaksin + uji tantang; P2 = perendaman salinitas 6 ppt + vaksin + uji tantang; dan P3 = perendaman salinitas 9 ppt + vaksin + uji tantang. Huruf superskrip menunjukkan perbedaan antarperlakuan ( $P < 0,05$ )

Figure 4. Survival rate of catfish treated with vaccine using the hyperosmotic infiltration method. Kn = no vaccine + no challenge test; Kp = no vaccine + challenge test; P1 = immersion in 3 ppt salinity + vaccine + challenge test; P2 = immersion in 6 ppt salinity + vaccine + challenge test; and P3 = immersion in 9 ppt salinity + vaccine + challenge test. Superscript letters indicate differences among treatments ( $P < 0,05$ )

### Gejala Klinis

Berdasarkan hasil pengamatan, perubahan tingkah laku dan morfologi ikan lele mulai tampak di hari pertama pascainfeksi bakteri *A. hydrophila*, yaitu terjadi peradangan pada bekas suntikan dan muncul bercak merah. Pada hari kedua pascainfeksi muncul lendir yang berlebih, nafsu makan yang menurun serta peradangan pada bekas suntikan yang semakin melebar. Pada hari ke-3, terdapat luka yang terbuka (*ulcer*) dan ikan berenang lemah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Fitriyanti (2020) yang menyatakan bahwa perubahan tingkah laku ikan lele yang terinfeksi *A. hydrophila* meliputi berenang tidak normal atau pasif dan nafsu makan yang menurun, sedangkan perubahan morfologi yang terjadi yaitu terdapat luka pada bekas suntikan, *dropsy*, dan nekrosis.

Rochani *et al.* (2021), menyatakan bahwa infeksi bakteri *A. hydrophila* juga menyebabkan terjadinya perubahan tingkah laku ikan seperti ikan berenang lemah dan respons terhadap pakan lambat. Pada

P1, P2, P3, dan kontrol positif menunjukkan adanya peradangan pada bekas suntikan dan bercak merah di hari pertama pascainfeksi. Menurut Rosmawaty *et al.* (2016), bercak merah yang timbul pada tubuh ikan disebabkan oleh eksotoksin (hemolisin dan lechitinase) yang disebarkan ke seluruh tubuh melalui aliran darah sehingga menyebabkan hemolisis dan pecahnya pembuluh darah. Hari ke-2, peradangan bekas suntikan semakin membesar, nafsu makan mulai menurun dan muncul lendir berlebih. Hari ke-3 pascainfeksi ditemukan luka atau *ulcer* pada kontrol positif, P1, dan P3 tidak ditemukan *ulcer*, namun masih terdapat peradangan dan bercak merah pada tubuh ikan, sedangkan peradangan pada ikan perlakuan P2 masih ada namun bercak merah mulai memudar. Pada hari ke-4 pascainfeksi, P1, P2, dan P3 menunjukkan nafsu makan yang kembali normal dan peradangan mulai menghilang, namun pada kontrol positif masih tampak bercak merah dan *ulcer*. Gejala klinis hari ke-5 pascainfeksi, pada perlakuan P1, P2, dan P3 baik secara morfologi (Gambar 5) maupun tingkah laku (Tabel 2)



Gambar 5. *Ulcer* pascainfeksi ikan lele pada percobaan pemberian vaksin dengan metode infiltrasi hiperosmotik hari ke-3 pada kontrol positif

Figure 5. *Wound* after infection in catfish in the experiment of application of the vaccine using the hyperosmotic infiltration method on day 3 on control positive

Tabel 2. Gejala klinis pascainfeksi pada ikan lele yang diberi vaksin dengan metode infiltrasi hiperosmotik

Table 2. *Clinical symptoms* after infection of catfish given the vaccine using the hyperosmotic infiltration method

Parameter Parameters	Kn	Kp	P1	P2	P3
Pergerakan <i>Movement</i>	+++	+	+++	+++	+++
Nafsu makan <i>Appetite</i>	+++	+	++	+++	++
Luka di badan <i>Body wounds</i>	-	+++	+	+	+

Keterangan: - = tidak ada, + = sedikit atau cukup, ++ = baik, dan +++ = sangat baik

Description: - = not detected, + = fairly, ++ = good, and +++ = very good

menunjukkan bahwa ikan sudah berangsur pulih. Hal ini ditandai dengan respons ikan terhadap pakan cepat dan ikan kembali berenang normal dan peradangan mulai mengecil, kemudian bercak merah juga mulai hilang, sedangkan pada kontrol positif, *ulcer* mulai membaik di akhir penelitian.

Gejala klinis yang muncul pada perlakuan P1, P2, dan P3 yang berangsur pulih sebelum 1 minggu pascainfeksi menunjukkan bahwa vaksin terserap dengan baik. Ellis (1988), menyatakan bahwa vaksinasi dengan metode infiltrasi hiperosmotik dapat menambah jumlah volume vaksin yang diserap ke dalam

tubuh ikan, dan salinitas 6 ppt (P2) merupakan dosis optimum karena mendekati dengan konsentrasi cairan tubuh ikan lele. Hal ini selaras dengan pendapat Firdausi *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan cairan tubuh menyebabkan penyerapan vaksin kurang maksimal, sebaliknya konsentrasi yang lebih tinggi dari cairan tubuh ikan akan berdampak pada kemampuan adaptasi ikan sehingga penyerapan vaksin juga kurang optimal. Firdausi *et al.* (2018) menyatakan bahwa vaksin produk intraseluler *A. hydrophila* dapat merangsang respons imun humoral

Tabel 3. Kualitas air media pemeliharaan ikan lele yang diberi vaksin dengan metode infiltrasi hiperosmotik  
 Table 3. Water quality of rearing media of catfish given the vaccine using the hyperosmotic infiltration method

No	Parameter Parameters	Nilai Scores	Kisaran optimum Optimum ranges	Referensi References
1	Suhu Temperature (°C)	25-27,4	25-30	SNI 6484.1: 2014
2	Oksigen terlarut (mg L <sup>-1</sup> ) Dissolved oxygen (mg L <sup>-1</sup> )	7,6-8,8	≥ 3	SNI 6484.1: 2014
3	pH	6,7-7,5	6,5-8	SNI 6484.1: 2014

yang lebih tinggi dengan pembentukan titer antibodi. Hal ini disebabkan dalam produk intraseluler *A. hydrophila* terdapat berbagai jenis protein dan polisakarida yang bersifat imunogenik. seperti immunoglobulin, faktor komplemen, lisozim, protease inhibitor menyerupai makroglobulin, jenis berbeda dari lektin dan serin (Swain dan Nayak, 2009).

#### Kualitas Air

Hasil pengukuran kualitas air yang dilakukan selama penelitian yaitu 25-27,4°C untuk suhu, 7,6 -8,8 mg L<sup>-1</sup> untuk oksigen terlarut, dan 6,7-7,5 untuk pH. Kisaran kualitas air selama penelitian masih dalam kondisi yang optimum untuk pertumbuhan ikan, meskipun mengalami fluktuasi, namun masih dalam kisaran toleransi ikan lele. Menurut Badan Standardisasi Nasional (2014), persyaratan kualitas air untuk ikan lele adalah suhu 25-30°C dengan pH 6,5-8 dan oksigen terlarut minimal 3 mg L<sup>-1</sup>. Nilai suhu, pH, dan oksigen terlarut merupakan faktor yang dapat memengaruhi kesehatan ikan, karena bila suhu, pH, dan oksigen terlarut tidak dalam nilai optimum maka dapat mengganggu pertumbuhan serta menimbulkan kematian pada ikan. Lusastuti *et al.* (2016) mengatakan bahwa di luar kisaran suhu 25-30°C, ikan lele akan mengalami pertumbuhan yang lambat dan penurunan resistensi terhadap penyakit, terutama yang disebabkan karena infeksi bakteri dan jamur. Dari hasil penelitian ini diketahui bahwa kualitas air bukan penyebab kematian dan gejala klinis yang terjadi pada ikan, namun sepenuhnya disebabkan oleh infeksi bakteri *A. hydrophila*. Data kualitas air dapat dilihat pada Tabel 3.

#### KESIMPULAN

Metode infiltrasi hiperosmotik sebelum vaksinasi berpengaruh nyata terhadap penyerapan vaksin sel utuh *A. hydrophila* pada ikan lele. Hal ini terbukti dengan adanya peningkatan sistem imun pada ikan lele. Hasil perendaman terbaik terjadi pada P2 (6 ppt) dengan memberikan nilai kelangsungan hidup ikan sebesar 100% setelah diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Azhar, F., & Wirasisya, D. G. (2019). Pelatihan penanganan *Streptococcus* pada ikan nila (*Oreochromus niloticus*) menggunakan pakan fermentasi di Desa Gontoran Lingsar. *Jurnal Abdi Insani*, 6(2), 229-240. <https://doi.org/10.29303/abdiinsani.v6i2.240>
- Azzahra, S. C., Effendy, Y., & Slamet, S. (2021). Isolasi dan karakterisasi bakteri pemacu pertumbuhan tanaman (*plant growth promoting Rhizobacteria*) asal tanah Desa Akar-Akar, Lombok Utara. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*, 6(2), 70-75. <http://dx.doi.org/10.36722/sst.v6i2.662>
- Badan Standardisasi Nasional. (2014). *Ikan lele dumbo (Clarias sp.) bagian 1: Induk*. SNI 6484.1:2014. Badan Standardisasi Nasional.
- Cerlina, M., Riauwati, M., & Syawal, H. (2021). Gambaran eritrosit ikan lele dumbo (*Clarias Gariepinus*) yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* yang diobati dengan larutan daun salam (*Syzygium polyantha*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 27(1), 105-113. <http://dx.doi.org/10.31258/jpk.27.1.105-113>

- Ellis, A. E. (1988). *Fish vaccination*. Academic Press.
- Firdausi, A. P., Sukenda, & Nuryati, S. (2018). Efikasi vaksinasi pada benih ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan metode infiltrasi hiperosmotik untuk mencegah infeksi *Streptococcus agalactiae*. *Jurnal Veteriner*, 18(4), 634-641. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2017.18.4.634>
- Firly, W. R., Mahasri, G., & Sulmartiwi, L. (2015). Pengaruh pemberian ekstrak *Sargassum* sp. dengan pelarut metanol pada pakan terhadap jumlah eritrosit dan differensial leukosit ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 7(2), 213-218. <https://doi.org/10.20473/jipk.v7i2.11209>
- Fitriyanti, P. D., Desrina, D., & Prayitno, S. B. (2020). Pengaruh perendaman kombinasi ekstrak daunbinahong dan bawang putih pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Sains Akuakultur Tropis*, 4(1), 61-67. <https://doi.org/10.14710/sat.v4i1.6912>
- Hamka, M. S., Meryandini, A., Widanarni, & Kurniaji, A. (2021). Efek probiotik *Bacillus megaterium* PtB 1.4 dan *Pediococcus pentosaceus* E2211 terhadap repons imun dan kelangsungan hidup ikan lele (*Clarias* sp.) selama uji tantang *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Fisheries and Marine Research*, 5(3), 567-577. <https://doi.org/10.21776/ub.jfmr.2021.005.03.9>
- Hidayatullah, D., Sukenda, Nuryati, S., Mulyani, R., & Kurniaji, A. (2022). Efikasi vaksin booster *Streptococcus agalactiae* pada induk ikan nila terhadap imunitas maternal untuk pencegahan streptococcosis. *Jurnal Ilmu-ilmu Perikanan dan Budidaya Perairan*, 17(2), 102–114. <https://doi.org/10.31851/jipbp.v17i2.9277>
- Lusiastuti, A. M., Ulkhaq, M. F., Widanarni, & Prihadi, T. H. (2016). Evaluasi pemberian probiotik *Bacillus* pada media pemeliharaan terhadap laju pertumbuhan dan perubahan histopatologi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Riset Akuakultur*, 11(2), 171-179. <http://dx.doi.org/10.15578/jra.11.2.2016.171-179>
- Maryani, Rozik, M., Nursiah, & Pudjirahaju, A. (2021). Gambaran aktivasi sistem imun ikan nila (*Oreochromis niloticus*) terhadap penambahan tepung daun sangkareho (*Callicarplongifolia lam.*) melalui pakan. *Jurnal Akuakultur Sungai dan Danau*, 6(2), 74-81. <http://dx.doi.org/10.33087/akuakultur.v6i2.118>
- Mastuti, R., Syawal, H., & Lukistyowati, I. (2018). Pengobatan penyakit MAS (*motile aeromonas septicaemia*) dengan ekstrak daun mangrove (*Rhizophora* sp.) pada ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*). *Jurnal online Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan*, 5(1), 1-12.
- Mulia, D. S., Wahyuningsih, S., Maryanto, H., & Purbomartono, C. (2015). Uji lapang pakan bervaksin *Aeromonas hydrophila* pada lele dumbo di daerah Cilacap. *Techno*, 16(2), 85-95.
- Nugroho, D. A., Mulia, D. S., & Mulyanto, H. (2019). *Imunogenisitas heat killed vaksin Aeromonas hydrophila strain GPI-03, GL-02, dan GK-01 pada ikan lele dumbo (Clarias gariepinus)*. *Prosiding Seminar Nasional Sains & Entrepreneurship VI*, 1(1), 1-8.
- Pattipeiluhu, S. M., Laimeheriwa, B. M., & Lekatompessy, A. A. P. (2022). Infeksi *Aeromonas hydrophila* dan dampaknya pada gejala klinis dan parameter darah ikan nila *Oreochromis niloticus*. 2022. *Journal of Fisheries and Marine Research*, 3(6), 6-13. <https://doi.org/10.21776/ub.jfmr.2022.006.03.2>

- Prananingtyas, D., Prayogo, & Rahardja, S. (2019). *Effect of different salinity level within water against growth rate, survival rate (fcr) of catfish (Clarias sp.). IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 236*, 012035. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/236/1/012035>
- Resmawati, M. B., Satyantini, W. H., & Suprpto, H. (2016). Pemberian ekstrak air panas *Spirulina platensis* melalui perendaman terhadap total leukosit, indeks fagositosis dan konsentrasi TNF- $\alpha$  *Osphronemus gouramy*. *Jurnal Biosains Pascasarjana, 18*(3), 183-190.
- Reynalta, R., Yuhana, M., & Lusiastuti, A. M. (2018). Efektivitas vaksin bakterial *Streptococcus agalactiae* dengan penyalut berbeda terhadap peningkatan kinerja imunitas ikan nila *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Jurnal Ikhtologi Indonesia, 19*(2), 205-215. <https://doi.org/10.32491/jii.v19i2.478>
- Rochani, N. Q. S., Sarjito, & Desrina. (2021). Pengaruh kombinasi ekstrak daun binahong dan temulawak pada pakan terhadap total eritrosit dan gejala klinis ikan lele (*Clarias sp.*) yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Sains Akuakultur Tropis, 5*(2), 128-135. <https://doi.org/10.14710/sat.v5i1.7131>
- Rosmawaty, R., Rosidah, & Liviawaty, E. (2016). Pemanfaatan ekstrak kulit jengkol dalam pakan ikan untuk meningkatkan imunitas benih gurame (*Osphronemus gouramy*) terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan, 7*(1), 14-22.
- Sukenda, Rusli, Nuryati, S., Hidayatullah, D. (2015). Durasi proteksi vaksin *Streptococcus agalactiae* untuk pencegahan streptococcosis pada ikan nila. *Jurnal Akuakultur Indonesia, 14*(2), 192-201. <https://doi.org/10.19027/jai.14.192-201>
- Suprpto, H., Sudarno, & Qomariyah, N. (2017). Pemberian vaksin *formalin killed cell* (FKC) *Vibrio alginolyticus* untuk meningkatkan survival rate (SR), titer antibodi dan fagositosis leukosit pada kerapu cantang (*Epinephelus sp.*) setelah uji tantang bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan, 9*(1), 15-24. <https://doi.org/10.20473/jipk.v9i1.7625>
- Swain, P., & Nayak, N. K. (2009). Role of maternally derived immunity in fish. *Fish & Shellfish Immunology, 27*(2), 89-99. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.04.008>
- Tauhid, Sumiati, T., & Andriyanto, S. (2018). Efektivitas metode aplikasi vaksin trivalen untuk pencegahan penyakit bakteri potensial pada budidaya ikan air tawar. *Jurnal Riset Akuakultur, 13*(1), 67-76. <http://dx.doi.org/10.15578/jra.13.1.2018.67-76>
- Tiamiyu, A. M., Olatoye, I. O., & Addeji O. B. (2019). Blood indices of African catfish (*Clarias gariepinus*) following dietary administration of *Talinum triangulare*. *International Journal of Research Granthaalayah, 7*(4), 185-198. <https://doi.org/10.29121/granthaalayah.v7.i4.2019.888>
- Yusuf, R., Riau waty, M., & Syawal, H. (2021). Efek perendaman ikan patin siam (*Pangasionodon hypophthalmus*) dalam larutan vaksin HydroVac terhadap diferensial leukosit. *Jurnal Ilmu Perairan, 9*(2), 134-143. <http://dx.doi.org/10.31258/jipas.9.2.p.134-143>
- Zissalwa, F., Syawal, H., & Lukisetyowati, I. (2020). Profil eritrosit ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*) yang diberi pakan mengandung ekstrak daun mangrove (*Rhizophora apiculata*) dan dipelihara dalam keramba. *Jurnal Perikanan dan Kelautan, 25*(1), 70-78.