

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ikan Mas

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi ikan mas menurut Saanin (1984) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Subfilum : Pisces

Kelas : Osteichthyes

Subkelas : Teleostei

Ordo : Ostariophysi

Sub Ordo : Cyprinoidea

Famili : Cyprinidae

Subfamili : Cyprinidae

Genus : *Cyprinus*

Spesies : *Cyprinus carpio*

Tubuh ikan mas agak memanjang dan memipih tegak (*compressed*). Mulut terletak di ujung tengah dan dapat disembulkan (protaktil). Bagian anterior mulut terdapat dua pasang sungut (Cahyono, 2002). Ikan mas memiliki lima buah sirip, yaitu sirip punggung yang terletak di bagian punggung, sirip dada yang terletak di belakang tutup insang, sirip perut yang terletak pada perut, sirip dubur yang

terletak di belakang dubur dan sirip ekor yang terletak di belakang tubuh dengan bentuk cagak (Hutama, 2011). Kulit pada beberapa spesies ikan dapat berfungsi untuk respirasi (Hoole *et al.* 2001). Sirip punggung (dorsal) berukuran relatif panjang dengan bagian belakang berjari-jari keras, dan sirip terakhir yaitu sirip ketiga dan keempat bergerigi (Mones, 2008). Letak permukaan sirip punggung berseberangan dengan permukaan sirip perut (ventral), sedangkan sirip anus yang terakhir bergerigi (Mones, 2008). Linea lateralis (gurat sisi) terletak di pertengahan tubuh, melintang dari tutup insang sampai ke ujung belakang pangkal ekor.

### **2.1.2 Habitat dan Distribusi**

Habitat hidup ikan mas biasanya di perairan tawar yang airnya tidak terlalu dalam dan alirannya tidak terlalu deras, seperti di pinggiran sungai atau danau. Suhu optimum untuk ikan mas berkisar antara 26°C hingga 28°C dan pH air antara 6 sampai 8 (Cholik *et al.*, 2005). Ikan mas memerlukan tingkat kadar oksigen yang tinggi untuk kelangsungan hidupnya yaitu antara 4 hingga 5 ppm, walaupun ikan ini masih tahan hidup pada kadar oksigen 1 hingga 2 ppm (Cholik *et al.*, 2005). Penyebaran ikan mas merata di daratan Asia juga Eropa, sebagian Amerika Utara dan Australia. Di Indonesia, ikan mas terdapat di sungai dan danau-danau di pulau Sulawesi, Kalimantan, dan Jawa (Cholik *et al.*, 2005).

## 2.2 Sistem Pertahanan Ikan

Ikan seperti hewan pada umumnya, memiliki mekanisme pertahanan diri terhadap patogen. Pada ikan teleostei terdapat dua macam sistem imun yaitu sistem imun bawaan (*innate*) yang bersifat spesifik dan sistem imun adaptasi (*adaptive*) yang bersifat spesifik. Sistem imun non spesifik ikan, meliputi penghalang fisik (mukus, kulit, sisik, dan insang), pertahanan humoral dan sel-sel fagositik. Tizard (1982), mekanisme dasar respon kekebalan untuk memerangi infeksi bakteri yaitu dengan netralisasi toksin/enzim oleh antibodi, pemusnahan oleh antibodi, komplemen dan lisozim, penelanan dan penghancuran bakteri serta penelanan dan penghancuran intraselular bakteri oleh makrofag yang diaktifasi.

Proses pembentukan antibodi diawali dengan masuknya bakteri (antigen) ke dalam tubuh ikan yang akan difagosit oleh makrofag, menyerapnya dan menghancurkan bagian-bagian asing itu ke permukaan. Sel T mulai menyerang benda asing tersebut dan mengikatnya ke makrofag dengan reseptor antigen. Sel limfosit B berperan dalam sistem imun spesifik humoral. Apabila sel B dirangsang oleh benda asing, maka sel tersebut akan berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel plasma yang dapat membentuk antibodi dan sel memori. Antibodi yang dilepas dapat ditemukan dalam darah. Sel limfosit T berperan dalam sistem imun spesifik selular. Banyak mikroorganisme yang berkembang biak secara intra-selular. Untuk melawan mikroorganisme intraselular tersebut, diperlukan respon imun selular yang merupakan fungsi dari limfosit T (Kresno, 1996). Proses fagositosis oleh sel-sel fagosit (makrofag) berperan pula dalam mekanisme penyajian antigen (*antigen presenting cell*) untuk

menstimulasi respon sel limfosit. Sistem imun non-spesifik merupakan pertahanan tubuh dalam menghadapi serangan berbagai mikroorganisme dengan memberikan respon langsung terhadap antigen, sedangkan sistem imun spesifik memerlukan waktu untuk mengenal antigen terlebih dahulu sebelum dapat memberikan responnya. Sistem imun spesifik memiliki kemampuan untuk mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya. Apabila sel imun tersebut bertemu kembali dengan benda asing yang sama, maka benda asing itu akan dikenali dengan lebih cepat, kemudian segera dihancurkan (Baratawidjaja, 1991).

### 2.3 *Aeromonas salmonicida*

Klasifikasi ilmiah *Aeromonas salmonicida* menurut Anonim (2007) adalah sebagai berikut :

Superkingdom: Bacteria

Filum : Proteobacteria

Kelas : Gammaproteobacteria

Ordo : Aeromonadales

Famili : Aeromonadaceae

Genus : *Aeromonas*

Spesies : *Aeromonas salmonicida*

*A. salmonicida* merupakan bakteri Gram negatif (Austin and Austin, 2007), berbentuk batang pendek dengan ukuran 1,3-2,0 x 0,8-1,3  $\mu\text{m}$ ; tidak motil; tidak membentuk spora; tidak membentuk kapsul; aerob; katalase positif; oxidase positif; tidak menghasilkan indol dan laktosa; menghasilkan enzim galatinase;

tampak seperti rantai berpasangan; berwarna putih; berbentuk bulat (*circulair*) dengan permukaan cembung (*convex*) (Anonim, 2007).

Bakteri *A. salmonicida* banyak dijumpai di perairan tawar dan laut serta mempunyai kisaran inang yang luas mulai dari ikan-ikan air tawar dan laut. Bakteri ini dapat bertahan hidup dalam air atau sedimen selama beberapa hari atau beberapa minggu tetapi tidak dapat berbiak, dan bersifat obligat (Kamiso *et al.*, 1993). *A. salmonicida* dapat bertahan dalam air pada periode waktu yang lama. Lamanya waktu tergantung pada kandungan mineral, pH dan temperatur air.

Gejala klinis atau tanda-tanda utama serangan *A. salmonicida* pada ikan adalah pembentukan ulkus-ulkus yang menyerupai bisul, perdarahan sirip, sirip putus/patah, perdarahan pada insang, lendir berdarah pada rectum, dan pembentukan cairan berdarah (Cipriano, 2001). Usus bagian belakang lengket dan bersatu serta pembengkakan limpa, dan nekrosis pada ginjal. Banyak jenis ikan air tawar yang dapat terserang penyakit ini (Septiama *et al.*, 2008). Penyakit *carp erythrodermatitis* pada ikan mas yang disebabkan oleh bakteri ini memiliki gejala klinis yaitu mengalami pendarahan pada bagian tubuh seperti dada, perut dan pangkal sirip, serta dapat menular dan dapat menyebabkan kematian pada ikan budidaya (Rocco and Graham, 2001). Cara penularannya yang utama secara horizontal, antara lain melalui air yang terkontaminasi, berhubungan dengan ikan sakit/carrier, telur yang terkontaminasi, berhubungan dengan alat/wadah yang digunakan dalam budidaya atau pakaian manusia yang terkontaminasi dan melalui bulu burung air (Kamiso, *et al.*, 1993).

## 2.4 Vaksin dan Vaksinasi

### 2.4.1 Pengertian Vaksin dan Vaksinasi

Vaksin adalah satu antigen yang biasanya berasal dari suatu jasad patogen yang telah dilemahkan atau dimatikan, untuk meningkatkan ketahanan (kekebalan) ikan atau menimbulkan kekebalan aktif terhadap suatu penyakit tertentu (Kordi dan Ghufran, 2004). Secara umum terdapat 2 jenis vaksin yakni vaksin konvensional dan vaksin modern (Alifuddin, 2002). Penjenisan ini semata-mata didasarkan atas teknologi produksi vaksin yang digunakan. Vaksin modern diproduksi dengan teknologi tinggi (*Hi-tech*); sedangkan vaksin konvensional diproduksi dengan teknologi sederhana. Vaksin yang termasuk kelompok vaksin modern atau vaksin biotek adalah vaksin rekombinan, vaksin monoklonal, *protein engineering vaccine* dan *genetic attenuation vaccine* (Alifuddin, 2002). Vaksin konvensional dibedakan atas vaksin mati (inaktif) dan vaksin hidup (aktif). Vaksin mati (inaktif) berasal dari patogen yang dimatikan ekstrak atau bagian-bagian tertentu dari patogen, sedangkan vaksin hidup (aktif) berasal dari patogen yang dilemahkan atau diatenuasi (Alifuddin, 2002). Secara umum vaksin yang digunakan adalah vaksin yang dimatikan, karena vaksin inaktif lebih mudah dibuat dan lebih aman untuk diaplikasikan (Ellis, 1988). Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk dapat mematikan bakteri yaitu dengan menggunakan formalin. Formalin mengandung metanol dan berfungsi sebagai stabilisator serta desinfektan. Formalin mampu membunuh bakteri dengan membuat jaringan dalam bakteri kekurangan air atau mengalami dehidrasi, yang mengakibatkan sel bakteri mengering (Roza *et.al.*, 2010). Bakteri yang diinaktifasi dengan formalin tersebut masih utuh atau dapat disebut sel utuh. Vaksin ini dikenal juga dengan

antigen H. Antigen H adalah antigen dari jasad pathogen yang utuh dan komposisi sel-nya lengkap. Antigen merupakan substansi spesifik yang dapat merangsang suatu reaksi-reaksi kekebalan yang spesifik. Umumnya substansi antigen tersebut berupa molekul besar seperti protein dan polisakarida, protein merupakan makromolekul yang imunogen yang dapat merangsang limfosit untuk menghasilkan antibodi (Nabib dan Pasaribu, 1989).

Vaksinasi adalah salah satu upaya untuk mencegah penyakit dengan cara pemberian antigen yang sudah dihilangkan patogenitasnya ke dalam tubuh ikan, untuk merangsang sel-sel limfosit sehingga menimbulkan ketahanan humoral (spesifik) (Roza *et. al.*, 2010). dan merupakan upaya yang efektif untuk menghindarkan diri dari residu antibakteri dan resistensi bakteri (Soeripto, 2002). Salah satu tujuan vaksinasi adalah untuk memunculkan pertahanan spesifik terhadap suatu patogen tertentu (Alifuddin, 2002). Sehingga ketika patogen tersebut menyerang maka tubuh akan merespon untuk mempertahankan diri dari serangan patogen tersebut.

Usaha vaksinasi dalam budidaya ikan telah memberikan hasil yang memuaskan seperti meningkatnya respon imun yang ditandai dengan peningkatan titer antibodi ikan. Sebagai contoh, penelitian dengan menggunakan, vaksin inaktif bakteri *A. salmonicida* untuk pencegahan penyakit *carp erythrodermatitis* yang memiliki ciri-ciri luka yang khas yaitu nekrosis pada otot, pembengkakan di bawah kulit, dengan luka terbuka berisi nanah, dan jaringan yang rusak di puncak luka tersebut seperti cekungan (Kamiso, 1993) menunjukkan tingkat imunogenitas

yang tinggi pada ikan, yang ditandai dari hasil titer antibodi sebesar 1:58.6667 (Setyawan, 2012).

#### **2.4.2 Metode Pemberian Vaksin**

Metode pemberian vaksin merupakan faktor yang sangat mempengaruhi dalam keberhasilan vaksinasi. Metode pemberian vaksin biasanya melalui suntikan, oral, dan perendaman. Vaksinasi melalui suntikan biasanya digunakan untuk ikan yang ukurannya besar. Vaksinasi melalui oral dapat diberikan dengan cara mencampur terlebih dahulu dengan bahan pengikat (*binder*), kemudian dilekatkan pada permukaan pelet atau dengan memasukkan vaksin dalam konsentrasi tertentu kedalam mulut ikan (Kordi and Ghufran, 2004). Vaksinasi melalui perendaman merupakan cara yang praktis dan efisien karena dapat dipakai untuk ikan ukuran kecil (benih) dan dalam jumlah besar, tidak menimbulkan stress, dan pelaksanaannya cukup mudah (Kordi and Ghufran, 2004).

#### **2.5 Imunostimulan**

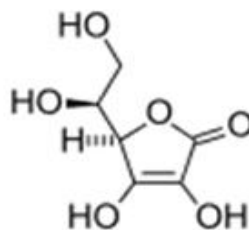
Imunostimulan adalah bahan alami berupa zat kimia, obat-obatan, *stressor*, atau aksi yang dapat meningkatkan respon imun non-spesifik atau bawaan (*innate immune response*) yang berinteraksi secara langsung dengan sel dari sistem yang mengaktifkan respon imun bawaan tersebut (Almendras, 2001; Wahyuningsih, 2001). Ellis (1988), menjelaskan bahwa immunostimulan adalah suatu zat yang termasuk dalam adjuvant, mempunyai kemampuan untuk meningkatkan ketahanan tubuh terhadap infeksi. Wahyuningsih (2001), menginformasikan bahwa cara penggunaan imunostimulan memiliki pengaruh terhadap sistem



kekebalan tubuh, yaitu dengan merangsang makrofag untuk mencegah masuknya benda asing yang akan menyerang tubuh ikan.

## 2.6 Vitamin C

Vitamin adalah suatu senyawa organik yang terdapat di dalam makanan dalam jumlah sedikit dan dibutuhkan jumlah yang besar untuk fungsi metabolisme yang normal. Vitamin dapat larut di dalam air dan lemak. Vitamin yang larut dalam lemak adalah Vitamin A, D, E, dan K dan yang larut di dalam air adalah vitamin B dan C (Dorland, 2006). Bakri (2010) menjelaskan bahwa vitamin C adalah nutrisi yang dibutuhkan untuk proses fisiologis hewan, termasuk ikan dan merupakan nutrisi esensial. Adapun rumus bangun dari vitamin C adalah sebagai berikut :



Gambar 1. Struktur kimia vitamin C  
(Sumber : Susanto *et.al*, 2009)

Vitamin C merupakan senyawa yang mudah larut dalam air dan merupakan unsur yang ditambahkan dalam pakan (Nuranto, 1991). Hal ini disebabkan karena ikan tidak mampu mensintesis vitamin C di dalam tubuhnya (Masumoto *et al*, 1991; Widiyati *et al*, 2002). Ketidakmampuan ikan mensintesis vitamin C disebabkan

karena tidak adanya enzim L-gulonolakton oksidase yang berperan dalam mengkonversi L-gulonolakton ke bentuk 2-keto-L-gulonolakton, sebagai tahap akhir dalam sintesis vitamin C (Dabrowski, 1991). Untuk itu kebutuhan vitamin C ikan harus dipasok dari luar. Kebutuhan vitamin bergantung kepada spesies, ukuran, kondisi lingkungan, stres fisiologis, umur ikan dan komposisi pakan (Hepher, 1988; Indriastuti, 2006).

Vitamin C merupakan salah satu bahan yang sering digunakan dalam pencegahan penyakit ikan, vitamin C dalam tubuh ikan berperan mengurangi stress dan mempercepat proses penyembuhan luka (Suprayudi, 2006). Verlhac *et al.* (1998) dalam Johnny *et al.* (2007) menyatakan bahwa vitamin C mempunyai kemampuan untuk menstimulasi tanggap kebal beberapa hewan, termasuk ikan dan fungsi biokimianya mempunyai pengaruh untuk meningkatkan daya tanggap kebal non-spesifik dan spesifik secara optimal. Selain itu, vitamin C mempunyai kemampuan untuk mempercepat reaksi kelompok hidroksilasi dengan formulasi kolagen yang sangat penting untuk pemeliharaan keseimbangan alami oleh kulit beserta jaringan lainnya. Dalam percobaan di laboratorium, vitamin C memperlihatkan keterlibatannya dalam proses pelepasan zat kebal oleh sel kebal (Johnny *et al.*, 2007). Banyak zat yang penting dikeluarkan atas bantuan vitamin C dalam pertahanan tubuh dari pencegahan infeksi patogen (Lagler *et al.*, 1977; Halver, 1989; Sandnes, 1991; Johnny *et al.*, 2007). Vitamin C selain dapat meningkatkan antibodi juga dapat meningkatkan aktivitas Cell Mediated Immunity (CMI) atau faktor – faktor non spesifik lainnya (Setyabudi *et.al.*, 1992).

## 2.7 Vitamin C sebagai Imunostimulan

Vitamin C merupakan nutrisi yang sangat dibutuhkan oleh tubuh. Secara umum vitamin C memiliki berbagai peranan diantaranya yaitu untuk meningkatkan pertumbuhan normal, mencegah kelainan bentuk tulang untuk kesehatan benih atau mengurangi stress, mempercepat penyembuhan luka dan meningkatkan pertahanan atau kekebalan tubuh melawan infeksi bakteri (Sunarto *et al.*, 2008). Vitamin C termasuk golongan antioksidan karena sangat mudah teroksidasi oleh panas, cahaya, dan logam, oleh karena itu penggunaan vitamin C sebagai antioksidan sangat sering dijumpai.

Vitamin C memiliki banyak peranan, salah satunya sebagai imunostimulan. Imunostimulan merupakan sekelompok senyawa biologi dan sintetis yang dapat meningkatkan tanggapan kebal spesifik dan non-spesifik (Zafran *et al.*, 1998; Johnny *et al.*, 2001; Johnny dan Roza, 2002; Roza *et al.*, 2002; 2003; 2004; 2005). Beberapa penelitian sebelumnya juga menyebutkan bahwa vitamin C merupakan salah satu bahan imunostimulan yang telah terbukti secara positif berpengaruh terhadap respon non spesifik pada sistem imun beberapa jenis ikan (Verlhac *et al.*, 1996; Li dan Gatlin, 2003; Lin dan Shiau, 2005; Suprayudi *et al.*, 2006).

Vitamin C dapat meningkatkan ketahanan tubuh ikan dengan cara membantu memelihara fungsi sel-sel fagosit melalui peningkatan kegiatan kemotaktik neutrofil dan makrofag serta mobilitas fagosit dimana kegiatan tersebut berpengaruh langsung terhadap pembentukan sel-sel fagosit (Nuranto, 1991). Selain itu vitamin C juga berperan dalam sintesa protein yang diperlukan dalam pembentukan respon imun (Widiyati, *et al.*, 2002).

Johnny *et al.* (2002) melaporkan bahwa vitamin C berpengaruh terhadap hemositologi ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis*. Giri *et al.* (2003) menyatakan bahwa penambahan vitamin C dalam pakan selain mempengaruhi pertumbuhan benih ikan kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus* juga dapat meningkatkan ketahanan ikan. Pemberian vitamin C dalam pakan pellet dapat meningkatkan respon imun ikan kerapu macan terhadap infeksi VNN (Mahardika *et al.*, 2004). Dalam laporan yang lain Jhonny *et al.*, (2007) menyatakan bahwa penambahan vitamin C dalam pakan pelet meningkatkan sintasan kerapu macan hingga 30%, meningkatkan aktifitas fagositik, dan aktifitas lisosim hal ini menunjukkan bahwa vitamin C mempunyai kemampuan untuk menstimulasi tanggap kebal beberapa hewan, termasuk ikan dan fungsi biokimianya mempunyai pengaruh untuk meningkatkan daya tanggap kebal non-sepesifik dan spesifik secara optimal. Benih ikan kerapu macan yang distimulir dengan vitamin C lebih tahan terhadap infeksi viral nervous necrosis (VNN) (Johnny *et al.*, 2007).

Sejumlah laporan lainnya juga menginformasikan bahwa vitamin C dapat meningkatkan respon imun non-spesifik ikan kerapu lumpur, *Epinephelus coioides* (Johnny *et al.*, 2005). Suprayudi *et al.*, (2006) melaporkan bahwa vitamin C dapat meningkatkan ketahanan tubuh ikan terhadap stres salinitas. Selain itu, Yuniarsih (2012), menginformasikan bahwa penggunaan bahan imunostimulan seperti vitamin C memberikan pengaruh pada peningkatan total leukosit dalam meningkatkan respon imun non spesifik ikan mas yang diuji tantang bakteri *A. salmonicida*.

## 2.8 Kombinasi Vaksin dan Vitamin C

Purbomantono, *et al* (2010) menginformasikan bahwa vaksinasi dengan vaksin polivalen dan vaksin polivalen plus sel *A. hydrophila* (Penambahan vitamin C dan adjuvan) dapat meningkatkan sintasan, RPS, dan titer antibodi pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*).

Penelitian yang lain juga menunjukkan bahwa ikan yang divaksinasi dengan menggunakan vaksin formalin-killed *Vibrio vulnificus* (FKVV) ditambah dengan vitamin C pada pakannya dapat meningkatkan respon perlindungan terhadap serangan bakteri *Vibrio vulnificus* dan imune memory pada *milkfish* (Azad *et al*, 2007). Selain itu Amakye-anim *et al*. (2000), menginformasikan bahwa vaksinasi dan suplementasi Asam askorbat pada pakan dapat meningkatkan pertumbuhan, menurunkan angka kematian, dan meningkatkan perlindungan dari serangan *infectious bursal disease virus* (IBDV) pada ayam. Penambahan asam askorbat pada pakan juga dapat meningkatkan kekebalan tubuh dan vaksinasi dapat meningkatkan respon imun baik humoral maupun seluler dari serangan *infectious bursal disease virus* (IBDV) pada ayam (Wu *et al.*, 2000).

Kombinasi vaksin inaktif *A. hydrophila* dan vitamin C menunjukkan hasil yang memuaskan, yaitu mampu menurunkan mortalitas benih ikan lele dari serangan bakteri *A. hydrophila* (Isnansetyo, 1996). Penelitian yang lain juga menyebutkan bahwa penambahan vitamin C dapat memberikan peningkatan aktifitas fagositosis (respon imun non spesifik), titer antibodi (respon imun spesifik), dan perlindungan kembali dari serangan bakteri *A. salmonicida* pada kerapu,

sedangkan vaksin sendiri dapat meningkatkan titer antibodi dan perlindungan terhadap serangan *A. salmonicida* pada ikan kerapu (Ilmiah, *et al.*, 2009).

