

ANALISIS EXTRACELLULER PRODUCT *Vibrio harveyi* BERBASIS NANO-KITOSAN YANG DIPERKAYA EKSTRAK *Caulerpa lentillifera* SEBAGAI VAKSIN ORAL UNTUK KERAPU CANTANG TERHADAP INFEKSI *Vibrio harveyi*

ANALYSIS OF NANO-CHITOSAN-BASED EXTRACELLULAR PRODUCTS OF VIBRIO HARVEYI ENRICHED WITH CAULERPA LENTILLIFERA EXTRACT AS AN ORAL VACCINE FOR HYBRID GROUPEL AGAINST VIBRIO HARVEYI INFECTION

Renanda Baghaz Dzulhamdhani Surya Putra^{1*}, Asus Maizar Suryanto Hertika², Jedda Ayu Ingrida³, Arendra Nicky Anugerah Putra⁴, Faris Setiawan⁴, Alya Madha Su'a Achmadi⁴

¹PSDKU Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Indonesia

²Program studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Indonesia

³Program studi Sosial Ekonomi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Indonesia

⁴Mahasiswa PSDKU Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Indonesia

email penulis korespondensi: renandabaghaz@ub.ac.id

Abstrak

Vibriosis merupakan penyakit penting yang menyebabkan tingginya tingkat kematian pada Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus x Epinephelus lanceolatus*), yang sebagian besar disebabkan oleh infeksi *Vibrio harveyi*. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas vaksin oral yang mengandung produk ekstraseluler (*extracellular product*, ECP) dari *Vibrio harveyi*, nano-kitosan, dan ekstrak *Caulerpa lentillifera* dalam meningkatkan ketahanan terhadap vibriosis pada ikan kerapu cantang. Rancangan percobaan mencakup pemeliharaan ikan *Epinephelus* spp. berukuran 10–12 cm selama 30 hari dengan lima perlakuan, yaitu: (A) infeksi *Vibrio harveyi* (kontrol), (B) ekstrak *Caulerpa lentillifera*, (C) ECP + nano-kitosan, dan (D) ECP + nano-kitosan + ekstrak *Caulerpa lentillifera*. Indikator utama yang dievaluasi meliputi tingkat kelangsungan hidup (%), *relative percent survival* (RPS, %), dan performa pertumbuhan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi nano-kitosan dan ECP dari *Vibrio harveyi* yang diperkaya dengan ekstrak *Caulerpa lentillifera* memberikan respons pertumbuhan yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Komposisi tersebut juga secara signifikan meningkatkan tingkat kelangsungan hidup ikan kerapu yang terinfeksi *Vibrio harveyi*. Temuan ini menunjukkan potensi vaksin oral berbasis nano-kitosan, ECP, dan ekstrak *Caulerpa lentillifera* sebagai pendekatan pencegahan yang menjanjikan terhadap infeksi *Vibrio harveyi* dalam akuakultur, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut untuk pengembangan aplikasi komersialnya.

Kata Kunci: *Caulerpa lentillifera*, *Extraceluller Product* (ECP), Nanochitosan, Vaksin oral.

Abstract

Vibriosis is a significant illness responsible for elevated death rates in Giant Grouper (Epinephelus fuscoguttatus x Epinephelus lanceolatus), mostly due to infection by Vibrio harveyi. This research aims to determine the effectiveness of an oral vaccination containing the extracellular product (ECP) of Vibrio harveyi, nano-chitosan, and Caulerpa lentillifera extract in improving disease resistance to vibriosis in Giant Grouper. The experimental design included the raising of Epinephelus spp. (10–12 cm) for 30 days throughout five treatment groups: (A) Vibrio harveyi infection (control), (B) Caulerpa lentillifera extract, (C) ECP + nano-chitosan, and (D) ECP + nano-chitosan + Caulerpa lentillifera extract. The evaluated main indicators were survival rate (%), relative percent survival (RPS, %), and growth performance. The results indicated that the combination of nano-chitosan and ECP from Vibrio harveyi, augmented by Caulerpa lentillifera extract, induced a significantly increased growth rate response relative to other treatment. This composition significantly enhanced the survival rates of Giant Grouper challenged by Vibrio harveyi. The findings highlight the promise of nano-chitosan, ECP, and Caulerpa lentillifera-based oral vaccines as a viable preventive approach against Vibrio harveyi infection in aquaculture, necessitating more research for commercial applications

Keywords: *Caulerpa lentillifera*, *Extraceluller Product* (ECP), Nanochitosan, Oral Vaccine

PENDAHULUAN

Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* × *Epinephelus lanceolatus*) merupakan spesies hibrida yang terbentuk melalui hibridisasi antar-spesies. Ikan laut ini banyak dibudidayakan karena memiliki nilai ekonomi yang tinggi serta permintaan pasar yang terus meningkat di Indonesia, Tiongkok, dan berbagai negara lainnya. Saat ini, penyakit vibriosis menjadi salah satu masalah kesehatan utama dalam budidaya Kerapu Cantang, yang menyebabkan kerugian ekonomi yang signifikan pada sektor akuakultur laut. Penyebab utama vibriosis adalah bakteri *Vibrio harveyi*, bakteri Gram-negatif yang berdampak besar terhadap kesehatan dan kelangsungan budidaya Kerapu Cantang (Nguyen *et al.*, 2017).

Dalam beberapa dekade terakhir, antibiotik telah digunakan secara luas sebagai strategi pengendalian vibriosis. Namun, penggunaan antibiotik secara berlebihan telah menimbulkan permasalahan resistensi bakteri dan kekhawatiran terkait residu obat (Liu *et al.*, 1997). Oleh karena itu, vaksinasi—baik berupa vaksin inaktivasi, subunit, maupun DNA—telah dikembangkan sebagai solusi alternatif untuk melindungi ikan dari infeksi bakteri. Berbagai jenis vaksin ini telah menunjukkan efektivitas dalam mengurangi infeksi patogen dan menekan ketergantungan terhadap antibiotik. Dengan demikian, pengembangan vaksin bagi hewan akuatik guna mencegah vibriosis menjadi sangat penting dalam praktik akuakultur modern (Gudding *et al.*, 2013).

Vaksin inaktivasi berbasis bakteri utuh yang diinaktivasi menggunakan formalin telah digunakan secara luas dalam akuakultur selama beberapa dekade, dan mampu memberikan perlindungan yang memadai terhadap penyakit bakteri (Nguyen *et al.*, 2017; Sommerset *et al.*, 2005; Huang *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2015). Vaksin berbasis sel utuh untuk Kerapu Cantang terhadap *Vibrio harveyi* umumnya diberikan melalui injeksi intraperitoneal, namun metode ini memiliki risiko seperti peradangan dan efek samping lainnya pada ikan (Zhang *et al.*, 2020).

Penelitian menunjukkan bahwa vaksin yang dikombinasikan dengan produk ekstraseluler bakteri (*Extracellular Products*, ECP), serta senyawa bioaktif lainnya, mampu memberikan perlindungan yang lebih baik terhadap infeksi bakteri dibandingkan vaksin monovalen (Xu *et al.*, 2019). Penelitian kami pada tahun 2023 dan 2024 menunjukkan bahwa *Caulerpa lentillifera* dapat dimasukkan ke dalam pakan sebagai imunostimulan, yang mampu meningkatkan kekebalan dan pertumbuhan baik pada ikan maupun udang (Hertika *et al.*, 2023; Hertika *et al.*, 2024a). Potensi ini dapat secara signifikan memperkuat sistem imun melalui aktivasi proses

imunologis yang dipicu oleh komponen vaksin, serta mendukung pengembangan vaksin oral yang efektif bagi Kerapu Cantang.

Kitosan merupakan salah satu jenis partikel yang digunakan dalam pengembangan vaksin. Kitosan dimanfaatkan dalam formulasi vaksin sebagai adjuvan dan media penghantar komponen vaksin karena sifatnya yang dapat terurai secara hayati dan kompatibel secara biologis, kemampuannya menembus celah antar sel untuk mencapai organ target, serta efektivitasnya dalam mengikat bahan aktif vaksin (Dounighi *et al.*, 2013; Wanda *et al.*, 2023; Joshi *et al.*, 2013).

Kitosan telah digunakan sebagai pembawa vaksin pada ikan, dengan menunjukkan kemampuan untuk meningkatkan respons imun adaptif serta memperkuat imunitas mukosa pada organisme akuatik (Dubey *et al.*, 2016; Bose *et al.*, 2019; Malek-Khatabi *et al.*, 2022). Penggunaan produk ekstraseluler (*Extracellular Product*/ECP) dari *Vibrio harveyi* yang dikombinasikan dengan nano-kitosan dan ekstrak *Caulerpa lentillifera* sebagai vaksin oral untuk ikan kerapu hibrida (*Epinephelus fuscoguttatus* × *Epinephelus lanceolatus*) diharapkan mampu memberikan perlindungan terhadap infeksi *Vibrio harveyi*.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis vaksin oral yang mengandung produk ekstraseluler (*Extracellular Product*, ECP) dari *Vibrio harveyi*, kitosan, dan ekstrak *Caulerpa lentillifera* dalam meningkatkan ketahanan terhadap penyakit vibriosis pada ikan kerapu hibrida. Studi ini memberikan wawasan mengenai proses imunologis yang diaktifkan oleh komponen vaksin, serta mendukung pengembangan vaksin oral untuk kerapu melalui analisis tingkat kelangsungan hidup (%), persentase kelangsungan hidup relatif (*Relative Percent Survival*, RPS, %), dan parameter pertumbuhan. Inovasi vaksin ini diharapkan menjadi alternatif yang layak dalam pencegahan infeksi *Vibrio harveyi*. Oleh karena itu, evaluasi terhadap efektivitasnya menjadi penting untuk mengatasi permasalahan kesehatan dalam budidaya kerapu hibrida. Vaksin ini diharapkan dapat meningkatkan daya tahan ikan terhadap infeksi *Vibrio harveyi*, sehingga berkontribusi terhadap peningkatan produktivitas ikan.

MATERI DAN METODE

Alat dan Bahan Penelitian

Bahan dan alat utama yang digunakan dalam penelitian ini meliputi mikroskop, laminar flow hood, dan inkubator, yang berperan penting dalam proses kultur *Vibrio harveyi*. Selain itu, akuarium digunakan untuk pemeliharaan ikan selama penelitian. Peralatan tambahan yang digunakan dalam penanganan *Vibrio harveyi*, produksi ekstraseluler (ECP), serta proses pemberian vaksin oral pada ikan mencakup sentrifus, mikropipet, spuit, dan mikropipet tambahan.

Persiapan dan Pemeliharaan ikan

Sepuluh ekor ikan kerapu cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* × *Epinephelus lanceolatus*) berukuran 10–12 cm dipelihara dalam wadah berventilasi baik dengan kondisi air laut bersalinitas 30–33 ppt dan suhu berkisar antara 29–31°C, sehingga memungkinkan pengambilan sampel darah tanpa menyebabkan kematian. Ikan kerapu cantang diaklimatisasi selama satu minggu sebelum percobaan dimulai. Pemberian pakan dilakukan dua kali sehari menggunakan pakan komersial.

Ekstraksi *Caulerpa lentillifera*

Prosedur ekstraksi mengikuti metode yang dijelaskan oleh Putra *et al.* (2024). Secara ringkas, tiga kilogram rumput laut *Caulerpa lentillifera* segar dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C, kemudian dihancurkan hingga menjadi serbuk halus dan diayak menggunakan saringan dengan ukuran lebih dari 80 mesh. Serbuk *Caulerpa lentillifera* tersebut kemudian dimaserasi menggunakan etanol selama empat hari dan disaring. Residu dari ekstraksi etanol selanjutnya diekstraksi ulang menggunakan akuadest dengan perbandingan 1:2 dalam tiga sesi selama masing-masing enam jam pada suhu 80°C. Ekstrak air dihasilkan melalui rotary evaporator.

Ekstraksi Produk Ekstraseluler (ECP)

Supernatan yang berasal dari kultur bakteri *Vibrio harveyi* disaring, kemudian dipanaskan pada suhu 70°C selama 30 menit. Supernatan tersebut, yang disebut sebagai Produk Ekstraseluler (ECP), berfungsi sebagai antigen. Untuk memastikan kesterilan, sebanyak 100 µL ECP diinokulasikan ke dalam medium Nutrient Agar (NA) dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 24 hingga 48 jam. Apabila tidak ditemukan pertumbuhan bakteri, maka ECP dinyatakan steril dan selanjutnya disimpan dalam freezer pada suhu -4°C untuk digunakan di kemudian hari.

Desain Eksperimen

Ikan kerapu hibrida (*Epinephelus fuscoguttatus* × *Epinephelus lanceolatus*) yang digunakan dalam penelitian ini memiliki ukuran sekitar 12 cm dan dipelihara dalam kotak kontainer berkapasitas air 130 liter. Setiap kontainer menampung 10–12 ekor ikan dan dialokasikan ke dalam lima kelompok perlakuan selama 30 hari, yaitu: (A) infeksi *Vibrio harveyi* (kontrol negatif), (B) ekstrak *Caulerpa lentillifera*, (C) ECP + nano-kitosan, dan (D) ECP + nano-kitosan + ekstrak *Caulerpa lentillifera*. Ikan yang telah diaklimatisasi divaksinasi setelah melalui masa adaptasi selama 4 hari. Ekstrak *Caulerpa lentillifera* sebanyak 0,42 gr (Hertika *et al.*, 2023) dan vaksin diberikan melalui penambahan pakan 5% dari bobot tubuh dengan volume 0,1 ml antigen yang dikombinasikan dengan nanokitosan dalam rasio antigen terhadap kitosan sebesar 1:10 (Suprpto *et al.*, 1996). Ekstrak *Caulerpa* ditambahkan Infeksi dilakukan melalui

injeksi intramuskular dengan 0,1 ml larutan *Vibrio harveyi* yang mengandung 10⁶ sel/ml (Bere *et al.*, 2023).

Tingkat Kelangsungan Hidup (*Survival Rate*)

Tingkat kelangsungan hidup, yang juga dikenal sebagai persentase kelangsungan hidup, merupakan proporsi ikan yang tetap hidup setelah uji tantang (*challenge test*). Tingkat kelangsungan hidup benih ikan kerapu hibrida ditentukan dengan menghitung jumlah ikan yang masih hidup pada akhir percobaan. Nilai ini umumnya dinyatakan dalam bentuk persentase (%), dan dihitung satu kali pada saat penelitian berakhir. Menurut Zooneveld (1991), tingkat kelangsungan hidup (%) dirumuskan sebagai jumlah ikan yang hidup dengan jumlah ikan awal, kemudian dikalikan 100 persen.

Persentase Kelangsungan Hidup Relatif (*Relative Percentage Survival / RPS*)

Relative Percent Survival (RPS) menunjukkan tingkat efektivitas vaksinasi secara komparatif pada benih kerapu hibrida (*Epinephelus fuscoguttatus* × *Epinephelus lanceolatus*). Nilai RPS digunakan untuk mengevaluasi apakah efektivitas vaksin dalam metode budidaya akuakultur tergolong optimal atau tidak.

Menurut Varvarigos (2005), RPS (%) didefinisikan sebagai 1 dikurangi rasio tingkat mortalitas ikan yang divaksin terhadap tingkat mortalitas ikan yang tidak divaksin, kemudian dikalikan 100%. Secara matematis sebagai berikut:

$$RPS (\%) = \left(1 - \frac{\text{Mortalitas ikan divaksin}}{\text{Mortalitas ikan tidak divaksin}} \right) \times 100$$

Analisis Pertumbuhan Panjang Absolute

Peningkatan panjang absolut telah ditentukan menggunakan metode yang dikemukakan oleh Lucas *et al.* (2015) sebagai berikut:

$$L = L_t - L_0$$

Keterangan:

L :Pertumbuhan panjang mutlak (cm)

L_t :Panjang ikan pada akhir masa pemeliharaan (cm)

L₀ :Panjang ikan pada awal masa pemeliharaan (cm)

Laju Pertumbuhan Spesifik (*SGR*)

Ikan kerapu hibrida menunjukkan pola pertumbuhan tidak terbatas (*indeterminate growth*), yang berlanjut meskipun telah mencapai kematangan seksual. Pola pertumbuhan hewan dengan tipe pertumbuhan tidak terbatas umumnya bersifat hiperbolik. Hal ini dikarenakan karakteristik pertumbuhan hiperbolik pada ikan, termasuk kerapu hibrida, fungsi pertumbuhan eksponensial sering digunakan, dengan pendekatan model laju pertumbuhan spesifik yang banyak diaplikasikan dalam budidaya perikanan. Laju pertumbuhan spesifik (SGR) dihitung pada akhir periode uji menggunakan rumus yang ditetapkan

oleh Muralisankar *et al.* (2021).

$$SGR = \frac{\ln(\text{Final wet body weight}) - \ln(\text{Initial wet body weight})}{\text{Time (days)}} \times 100$$

Rasio Konversi Pakan (FCR)

Rasio konversi pakan (*Feed Conversion Ratio/FCR*) didefinisikan sebagai perbandingan antara jumlah pakan yang dikonsumsi dengan penambahan bobot tubuh yang dihasilkan. Nilai FCR dihitung pada akhir periode uji menggunakan rumus yang diacu dari Jaffer *et al.* (2020).

$$FCR = \frac{\text{Feed intake (g)}}{\text{Weight gain (g)}}$$

Analisis Kualitas Air

Analisis kualitas air meliputi suhu, salinitas, oksigen terlarut, dan pH dilakukan mengacu pada Manan *et al.* (2013) selama penelitian langsung pada media hidup hewan uji menggunakan alat ukur terkalibrasi. Pengukuran dilakukan setiap hari untuk memastikan kondisi lingkungan tetap optimal selama masa pemeliharaan. Analisis suhu menggunakan thermometer digital, salinitas menggunakan refraktometer, kadar oksigen terlarut menggunakan DO meter, dan pH menggunakan pH meter.

Analisis Data

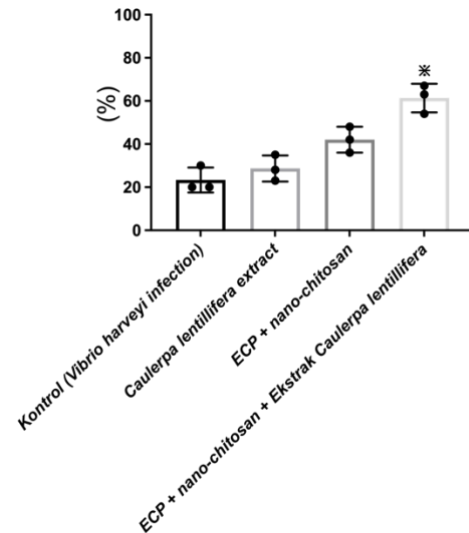
Data disajikan dalam bentuk rerata \pm simpangan baku (mean \pm SD). Signifikansi statistik perbedaan antar kelompok (tiga atau lebih) dianalisis menggunakan uji analisis varians satu arah (ANOVA), yang kemudian dilanjutkan dengan uji Least Significant Difference (LSD). Nilai $p < 0,05$ dianggap menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik. Seluruh analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS for Windows (SPSS Inc., Versi 20.0, Chicago, USA). Grafik dibuat menggunakan GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, Inc., USA).

HASIL

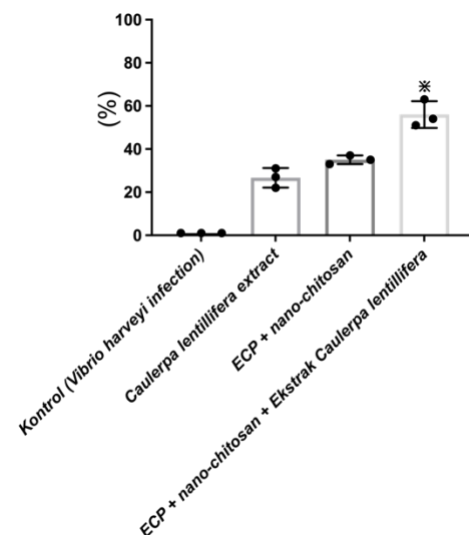
Tingkat Kelangsungan Hidup (*Survival Rate*)

Pada Gambar 1 menunjukkan persentase tingkat kelangsungan hidup pada ikan kerapu cantang yang diberikan berbagai perlakuan setelah infeksi *Vibrio harveyi*. Kelompok kontrol yang hanya terpapar *Vibrio harveyi* menunjukkan tingkat kelangsungan hidup terendah (~20%). Kelompok yang diberi perlakuan ekstrak *Caulerpa lentillifera* menunjukkan peningkatan kelangsungan hidup yang sedikit lebih tinggi, sementara kelompok yang menerima nano-kitosan juga menunjukkan peningkatan serupa. Perlakuan kombinasi ECP dan nano-kitosan menghasilkan tingkat kelangsungan hidup yang lebih baik. Tingkat kelangsungan hidup tertinggi, melebihi 60%, diamati pada kelompok yang menerima kombinasi ECP, nano-kitosan, dan ekstrak *Caulerpa lentillifera*, yang secara statistik

berbeda signifikan dibandingkan kelompok kontrol. Temuan ini menunjukkan bahwa kombinasi ECP, nano-kitosan, dan ekstrak *Caulerpa lentillifera* memberikan perlindungan paling efektif terhadap infeksi *Vibrio harveyi*.



Gambar 1. Grafik hasil analisis tingkat kelangsungan hidup (SR) Ikan Kerapu Cantang dengan induksi ECP, nanochitosan, *Caulerpa lentillifera* yang di infeksi *Vibrio harveyi*. Data disajikan dalam bentuk rata-rata \pm SD, dengan * $P < 0,05$ signifikan.



Gambar 2. Relative Percentage Survival Ikan Kerapu Cantang dengan induksi ECP, nanochitosan, *Caulerpa lentillifera* yang di infeksi *Vibrio harveyi*. Data disajikan dalam bentuk rata-rata \pm SD, dengan * $P < 0,05$ signifikan.

Persentase Kelangsungan Hidup Relatif (*Relative Percentage Survival / RPS*)

Nilai RPS pada ikan kerapu cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* \times *Epinephelus lanceolatus*) yang dipaparkan pada berbagai kelompok perlakuan setelah infeksi *Vibrio harveyi* menunjukkan bahwa kelompok kontrol—yang

hanya dipaparkan pada *Vibrio harveyi*—memiliki persentase kelangsungan hidup relatif (RPS) terendah, mendekati 0% (Gambar 2). Kelompok yang diberikan ekstrak *Caulerpa lentillifera* menunjukkan peningkatan RPS yang relatif moderat, sementara perlakuan ECP + nano- kitosan memberikan perbaikan lebih lanjut. Nilai RPS tertinggi, yakni di atas 60%, tercatat pada kelompok perlakuan kombinasi ECP + nano- kitosan + ekstrak *Caulerpa lentillifera*, yang berbeda signifikan dibandingkan kelompok kontrol ($P < 0,05$). Temuan ini menunjukkan bahwa kombinasi ECP, nano-kitosan, dan ekstrak *Caulerpa lentillifera* memberikan perlindungan yang lebih unggul terhadap infeksi *Vibrio harveyi* pada kerapu hibrida.

Analisis Pertumbuhan Panjang Absolute

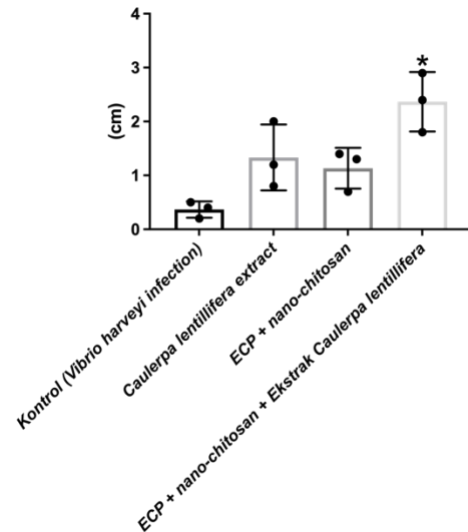
Berdasarkan hasil analisis pertumbuhan panjang mutlak ikan kerapu (Gambar 3), kelompok yang diberi perlakuan kombinasi ECP + nano-kitosan + ekstrak *Caulerpa lentillifera* menunjukkan pertumbuhan tertinggi dengan rata-rata $2,84 \pm 0,62$ cm, yang berbeda nyata secara statistik ($P < 0,05$) dibandingkan kelompok lainnya. Kelompok yang hanya diberi ekstrak *Caulerpa lentillifera* mengalami pertumbuhan sebesar $1,42 \pm 0,63$ cm, sedangkan kelompok ECP + nano-kitosan mencapai $1,34 \pm 0,47$ cm. Sementara itu, kelompok kontrol yang hanya terinfeksi *Vibrio harveyi* tanpa perlakuan menunjukkan pertumbuhan terendah, yaitu $0,52 \pm 0,18$ cm, yang mengindikasikan bahwa infeksi bakteri tersebut secara signifikan menghambat pertumbuhan ikan. Temuan ini menegaskan bahwa kombinasi antigen ECP, pembawa nano- kitosan, dan imunostimulan alami dari *Caulerpa lentillifera* memberikan efek sinergis dalam meningkatkan performa pertumbuhan ikan yang terinfeksi.

Laju Pertumbuhan Spesifik (SGR)

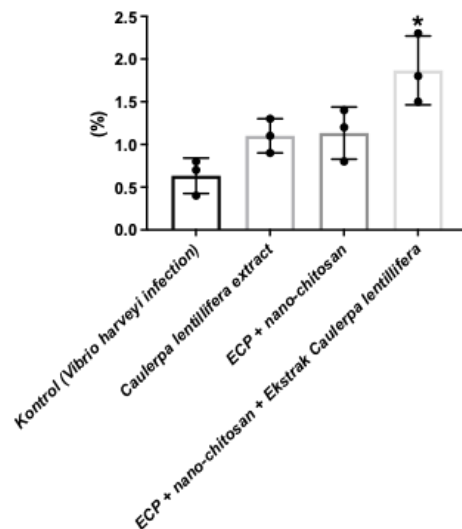
Berdasarkan hasil analisis laju pertumbuhan spesifik ikan kerapu (Gambar 4), kelompok yang memperoleh perlakuan ECP + nano-kitosan + ekstrak *Caulerpa lentillifera* menunjukkan nilai SGR tertinggi sebesar $2,08 \pm 0,39\%$, dan berbeda nyata secara statistik ($P < 0,05$) dibandingkan kelompok lainnya. Kelompok dengan perlakuan ECP + nano-kitosan menunjukkan SGR sebesar $1,32 \pm 0,27\%$, sementara kelompok yang hanya diberikan ekstrak *Caulerpa lentillifera* menghasilkan nilai SGR sebesar $1,10 \pm 0,19\%$. Adapun kelompok kontrol yang hanya terinfeksi *Vibrio harveyi* tanpa perlakuan vaksinasi menunjukkan laju pertumbuhan spesifik terendah, yakni $0,69 \pm 0,21\%$, mengindikasikan bahwa infeksi patogen tersebut secara signifikan menurunkan performa pertumbuhan ikan.

Temuan ini memperkuat dugaan bahwa formulasi oral berbasis kombinasi antigen ECP, nano-kitosan sebagai pengangkut, dan ekstrak *Caulerpa lentillifera* sebagai imunostimulan alami mampu memberikan perlindungan dan stimulasi

pertumbuhan yang lebih efektif pada ikan kerapu dalam menghadapi infeksi *Vibrio harveyi*.



Gambar 3. Grafik hasil analisis Panjang absolut/mutlak Ikan Kerapu Cantang dengan induksi ECP, nanochitosan, *Caulerpa lentillifera* yang di infeksi *Vibrio harveyi*. Data disajikan dalam bentuk rata-rata ± SD, dengan $*P < 0,05$ signifikan.



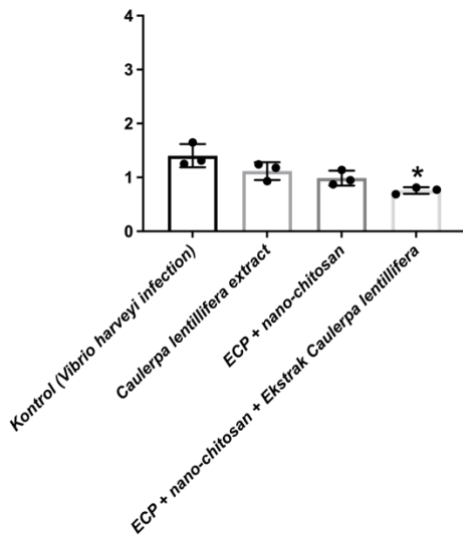
Gambar 4. Grafik hasil analisis Persentase Kelangsungan Hidup Relatif (SGR) Ikan Kerapu Cantang dengan induksi ECP, nanochitosan, *Caulerpa lentillifera* yang di infeksi *Vibrio harveyi*. Data disajikan dalam bentuk rata-rata ± SD, dengan $*P < 0,05$ signifikan.

Rasio Konversi Pakan (FCR)

Berdasarkan hasil analisis nilai rasio konversi pakan (*Food Conversion Ratio*/FCR) (Gambar 5), kelompok ikan kerapu yang diberi perlakuan ECP + nano-kitosan + ekstrak *Caulerpa lentillifera* menunjukkan nilai FCR terendah yaitu $0,80 \pm 0,08$, yang berbeda nyata secara statistik ($P < 0,05$) dibandingkan kelompok lainnya, menandakan efisiensi pemanfaatan pakan yang lebih tinggi. Kelompok yang menerima perlakuan ECP + nano-kitosan memiliki nilai FCR sebesar 1,03

$\pm 0,07$, sementara kelompok dengan ekstrak *Caulerpa lentillifera* saja menunjukkan FCR sebesar $1,05 \pm 0,10$.

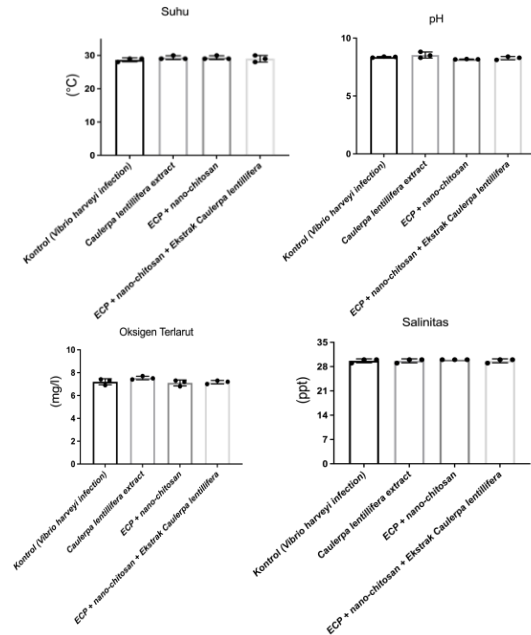
Adapun pada kelompok kontrol yang hanya terinfeksi *Vibrio harveyi* tanpa perlakuan vaksinasi memiliki FCR tertinggi, yakni $1,28 \pm 0,24$, mencerminkan efisiensi pertumbuhan yang paling rendah akibat infeksi patogen. Hasil ini mengindikasikan bahwa penggunaan vaksin oral berbasis ECP yang dikombinasikan dengan nano-kitosan dan ekstrak *Caulerpa lentillifera* tidak hanya meningkatkan kekebalan dan pertumbuhan ikan, tetapi juga secara signifikan memperbaiki efisiensi konversi pakan.



Gambar 5. Grafik hasil analisis nilai rasio konversi pakan (*Food Conversion Ratio/FCR*) Ikan Kerapu Cantang dengan induksi ECP, nanochitosan, *Caulerpa lentillifera* yang di infeksi *Vibrio harveyi*. Data disajikan dalam bentuk rata-rata±SD, dengan * $P < 0,05$ signifikan.

Analisis Kualitas Air

Kualitas air pada kerapu hibrida (*Epinephelus fuscoguttatus* × *Epinephelus lanceolatus*) yang diberikan perlakuan berbeda setelah infeksi *Vibrio harveyi* ditunjukkan pada Gambar 6. Seluruh parameter kualitas air yang diukur (suhu, pH, DO, dan salinitas) tetap berada dalam kisaran yang sesuai pada seluruh kelompok perlakuan. Stabilitas parameter-parameter ini mengonfirmasi bahwa perbedaan yang diamati dalam kinerja pertumbuhan, kelangsungan hidup, dan respons imun pada analisis sebelumnya terutama disebabkan oleh perlakuan yang diberikan, bukan oleh fluktuasi lingkungan. Hasil ini memvalidasi efektivitas ECP, nano-kitosan, dan ekstrak *Caulerpa lentillifera* dalam meningkatkan kesehatan ikan tanpa mengubah kualitas air, sehingga menjadikannya kandidat yang layak untuk manajemen penyakit yang berkelanjutan dalam budidaya perikanan. Suhu merupakan determinan penting fisiologi ikan yang memengaruhi laju metabolisme, pertumbuhan, dan perilaku.



Gambar 6. Grafik hasil analisis kualitas air Ikan Kerapu Cantang dengan induksi ECP, nanochitosan, *Caulerpa lentillifera* yang di infeksi *Vibrio harveyi*. Data disajikan dalam bentuk rata-rata±SD, dengan * $P < 0,05$ signifikan.

PEMBAHASAN

Persentase tingkat kelangsungan hidup pada ikan kerapu cantang setelah terpapar infeksi dari *Vibrio harveyi*. Dalam penelitian ini, ditemukan bahwa kelompok kontrol yang hanya terpapar bakteri *V. harveyi* mencatatkan tingkat kelangsungan hidup terendah, mencapai sekitar 20%. Hal ini menunjukkan kerentanan signifikan dari ikan kerapu cantang terhadap infeksi bakteri tersebut, yang senada dengan penelitian oleh Shen *et al.* (2017); Huang *et al.* (2014) & Bunlipatanon *et al.* (2017), yang mencatat bahwa infeksi *Vibrio sp* menjadi penyebab utama kematian pada ikan hybrid ini.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi tunggal ekstrak *Caulerpa lentillifera*, ECP, maupun nano-kitosan mampu memberikan efek protektif terhadap tingkat kelangsungan hidup organisme uji. Namun demikian, kombinasi ketiga komponen tersebut menunjukkan efektivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan tunggal. Temuan ini menegaskan bahwa sinergi antar komponen bioaktif dan adjuvan berperan penting dalam meningkatkan respon proteksi pada organisme uji, sejalan dengan konsep bahwa kombinasi bahan aktif sering kali menghasilkan efek yang lebih optimal daripada penggunaan komponen secara terpisah. Selain peningkatan kelangsungan hidup, perlakuan dengan ekstrak *Caulerpa lentillifera* juga memberikan dampak positif terhadap performa pertumbuhan organisme uji. Hal ini tercermin dari kenaikan panjang tubuh dan laju pertumbuhan spesifik yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tanpa

suplementasi ekstrak. Peningkatan performa pertumbuhan ini dapat dikaitkan dengan kandungan berbagai senyawa bioaktif dalam *Caulerpa lentillifera*, di antaranya clionasterol, 1,4-glukan, dan 1,3- β -glukan, yang berperan dalam stimulasi metabolisme dan sistem imun (Zhang *et al.*, 2020; Shevchenko *et al.*, 2009; Yuniarti *et al.*, 2015).

Mekanisme peningkatan pertumbuhan dan ketahanan tubuh yang diamati berkaitan erat dengan aktivitas antioksidan yang dimiliki *Caulerpa lentillifera*. Senyawa antioksidan dari alga ini umumnya termasuk dalam golongan utama fitokimia, seperti fenolik dan flavonoid, yang memiliki gugus hidroksil. Gugus hidroksil tersebut berfungsi sebagai donor hidrogen untuk menstabilkan radikal bebas sekaligus menghentikan pembentukan radikal bebas baru di dalam tubuh organisme (Pereira *et al.*, 2009; Yap *et al.*, 2019; Alshalmani *et al.*, 2014). Aktivitas antioksidan ini tidak hanya melindungi sel dari kerusakan oksidatif, tetapi juga mendukung fungsi metabolisme yang optimal sehingga berkontribusi terhadap peningkatan pertumbuhan.

Keberadaan senyawa bioaktif tersebut menjadi faktor kunci dalam mendukung peningkatan performa pertumbuhan serta ketahanan tubuh terhadap infeksi patogen. Dengan demikian, *Caulerpa lentillifera* berpotensi besar digunakan sebagai bahan herbal alami yang dapat menggantikan penggunaan antibiotik dalam upaya pencegahan penyakit akibat infeksi bakteri patogen. Potensi ini sangat penting dalam konteks pengembangan akuakultur berkelanjutan yang mengurangi ketergantungan terhadap antibiotik sintesis.

Temuan penelitian ini diperkuat oleh hasil studi kami sebelumnya yang dilakukan oleh Hertika *et al.* (2024b), yang menunjukkan bahwa induksi ekstrak *Caulerpa lentillifera* pada udang memberikan pengaruh positif terhadap performa pertumbuhan. Pemberian ekstrak ini mampu meningkatkan secara signifikan nilai *Specific Growth Rate* (SGR) dan *Average Daily Growth* (ADG) dibandingkan dengan kelompok kontrol. Selain itu, terjadi penurunan nilai *Feed Conversion Ratio* (FCR) yang signifikan, menunjukkan efisiensi pemanfaatan pakan yang lebih baik. Konsistensi hasil antara penelitian terdahulu dan penelitian ini mengindikasikan bahwa *Caulerpa lentillifera* memiliki potensi besar untuk digunakan sebagai bahan aditif alami dalam pakan guna mendukung pertumbuhan optimal dan efisiensi budidaya organisme akuatik.

Chitosan, termasuk *nano-chitosan*, dapat bertindak sebagai imunomodulator yang efektif, juga mencatat peningkatan kelangsungan hidup pada spesies lainnya, mendukung hasil dari pengaruh kitosan dalam studi ini (Dubey *et al.*,

2016). Kelompok yang menerima perlakuan kombinasi dari *nano-chitosan* dan *Caulerpa lentillifera* menunjukkan hasil yang signifikan, dengan tingkat kelangsungan hidup melebihi 60%. Ini menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan tersebut tidak hanya memberikan efek sinergis dalam meningkatkan daya tahan terhadap infeksi bakteri, tetapi juga menunjukkan manfaat dalam mempertahankan kesehatan intestinal yang penting untuk kelangsungan hidup jangka panjang (Joshi *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2015).

Penelitian ini menemukan bahwa perlakuan kombinasi ECP, nano-kitosan, dan ekstrak *Caulerpa lentillifera* memiliki perbedaan yang signifikan secara statistik dibandingkan dengan kelompok kontrol. Temuan ini menunjukkan bahwa adaptasi terhadap pengobatan berbasis bioaktif dapat menjadi strategi penting dalam pengelolaan kesehatan ikan kerapu. Hal ini erbanding lurus dari studi kami sebelumnya Putra *et al.* (2025), menunjukkan bahwa kombinasi nano-kitosan dan *whole cell* (WC) dari *Vibrio harveyi* yang disuplementasi dengan ekstrak *Caulerpa lentillifera* mampu meningkatkan aktivasi sistem imun secara lebih optimal dibandingkan dengan perlakuan alternatif lainnya. Perlakuan tersebut secara signifikan meningkatkan sistem imun melalui peningkatan profile hematologi, respons aktivitas fagositosis, serta struktur jaringan insang pada ikan kerapu cantang setelah terinfeksi *Vibrio harveyi*. Temuan ini menegaskan bahwa imunisasi oral berbasis nano-kitosan, WC, dan ekstrak *Caulerpa lentillifera* memiliki potensi sebagai strategi profilaksis yang efektif untuk mencegah infeksi *V. harveyi* pada sistem budidaya perikanan. Meskipun demikian, diperlukan penelitian lanjutan untuk mengevaluasi stabilitas, konsistensi efektivitas, serta kelayakan penerapannya dalam skala komersial.

Penelitian ini menegaskan pentingnya integrasi bahan alami sebagai strategi preventif dalam sistem budidaya modern. Kombinasi ECP, nano-kitosan, dan ekstrak *Caulerpa lentillifera* berfungsi tidak hanya sebagai imunostimulan, tetapi juga dalam memperkuat respons imun nonspesifik ikan terhadap patogen. Temuan ini mendukung tren global akuakultur yang mengedepankan pendekatan ramah lingkungan melalui pemanfaatan senyawa bioaktif alami untuk mengurangi ketergantungan pada antibiotik dan bahan kimia sintesis. Formulasi pakan berbasis bioaktif ini berpotensi menjadi solusi inovatif dalam meningkatkan ketahanan penyakit sekaligus mendorong keberlanjutan budidaya ikan kerapu cantang. Namun demikian, diperlukan pengujian lebih lanjut dengan berbagai kondisi budidaya dan variasi dosis untuk memperkuat bukti ilmiah serta membuka peluang penerapan yang lebih luas dalam praktik akuakultur.

KESIMPULAN

Sebagai kesimpulan, penelitian ini memberikan bukti kuat bahwa formulasi ECP + nano-kitosan + ekstrak *Caulerpa lentillifera* meningkatkan performa pertumbuhan dan efisiensi pakan, menjadikannya kandidat vaksin oral yang menjanjikan untuk mengendalikan infeksi *Vibrio harveyi* pada ikan kerapu hibrida. Temuan ini memiliki potensi aplikasi untuk meningkatkan keberlanjutan akuakultur dan manajemen kesehatan ikan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Skema Hibah UBRICS Universitas Brawijaya tahun 2024 dengan Nomor Kontrak 01084.12/UN10.A0501/B/KS/2024. Para peneliti juga menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang berkontribusi dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alshalmani, S.K.; Zobi, N.H.; and Bozakouk, I.H. (2014). Antibacterial activity of Libyan seaweed extracts. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 5: 5425–5429.
- Bere, K. O. S., Salosso, Y., & Pasaribu, W. (2023). Pencegahan Infeksi Bakteri *Vibrio alginolyticus* Pada Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* × *lanceolatus*) Dengan Menggunakan Kombinasi Madu Dan Air Rebusan Patikan Kerbau (*Euphorbia hirta*). *Jurnal Vokasi Ilmu-ilmu Perikanan*, 4(1): 118-125.
- Bose, R. J., Kim, M., Chang, J. H., Paulmurugan, R., Moon, J. J., Koh, W., ... & Park, H. (2019). Biodegradable polymers for modern vaccine development. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 77: 12-24.
- Bunlipatanon, P., & U-taynapun, K. (2017). Growth performance and disease resistance against *Vibrio vulnificus* infection of novel hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus* × *Epinephelus fuscoguttatus*). *Aquaculture research*, 48(4): 1711-1723.
- Dounighi, N., Zolfagharian, H., Khaki, P., Bidhendi, S., & Sarei, F. (2013). Alginate nanoparticles as a promising adjuvant and vaccine delivery system. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 75(4): 442.
- Dubey, S., Avadhani, K., Mutalik, S., Sivadasan, S. M., Maiti, B., Girisha, S., ... & Munang'andu, H. M. (2016). *Edwardsiella tarda* ompa encapsulated in chitosan nanoparticles shows superior protection over inactivated whole cell vaccine in orally vaccinated fringed-lipped peninsular carp (*Labeo fimbriatus*). *Vaccines*, 4(4): 40.
- Gudding, W.B., Van Muiswinkel, (2013). A history of fish vaccination : Science-based disease prevention in aquaculture, *Fish Shellfish Immunology*. 35 1683-1688.
- Hertika, A. M. S., Kilawati, Y., Nurlaelih, E. E., & Putra, R. B. D. S. (2023). Effect of Ethanol and Methanol Extract of *Caulerpa lentillifera* on Hematological Parameters and Phagocytosis of *Cyprinus carpio*. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries Zoology*, 27(1): 385-395.
- Hertika, A. M. S., Supriatin, F. E., & Putra, R. B. D. S. (2024a). Uji Ekstrak Air, Etanol dan Metanol *Caulerpa lentillifera* Terhadap Bakteri *Vibrio* sp. (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio harveyi* dan *Vibrio alginolyticus*). *JFMR (Journal of Fisheries and Marine Research)*, 8(1): 29-38.
- Hertika, A. M. S. Muhammad, M., Mohamad, F., Renanda BDS, (2024b). The Growth and Hemocyte Analysis of the Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Induced by Different Concentration of Artificial Seawater and Water Extract Of Sea Grapes (*Caulerpa lentillifera*). *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 28(2): 859-869.
- Huang, Y.C. Chen, P.C. Wang, M.A. Tsai, S.C. Yeh, H.J. Liang, S.C. Chen. 2014. Efficacy of a formalin- inactivated vaccine against *Streptococcus iniae* infection in the farmed grouper *Epinephelus coioides* by intraperitoneal immunization, *Vaccine*. 32:7014-7020.
- Jaffer, Y. D., Saraswathy, R., Ishfaq, M., Antony, J., Bundela, D. S., & Sharma, P. C. (2020). Effect of low salinity on the growth and survival of juvenile pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*: A revival. *Aquaculture*, 515, 734561
- Joshi, V. B., Geary, S. M., & Salem, A. K. (2013). Biodegradable particles as vaccine antigen delivery systems for stimulating cellular immune responses. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 9(12): 2584-2590.
- Liu, H. Zhang, Y. Gao, Y. Zhang, H. Wu, Y. Zhang. 2015. Efficacy of chitosan oligosaccharide as aquatic adjuvant administered with a formalin-inactivated *Vibrio anguillarum* vaccine, *Fish Shellfish Immunol.* 47 (2015): 855-860.
- Liu, K.K. Lee, S.N.J.M. Chen.1997.Susceptibility of different isolates of *Vibrio harveyi* to antibiotics, *Microbios*.91: 175-180.
- Lucas, F. G. W., Kalesaran, J. O., Lumenta, C. 2015. Pertumbuhan dan kelangsungan hidup larva gurame (*Oshpronemus gourami*) dengan pemberian beberapa jenis pakan. *Jurnal Budidaya Perairan*, 3 (2): 19-28.
- Malek-Khatabi, A., Tabandeh, Z., Nouri, A., Mozayan, E., Sartorius, R., Rahimi, S., ... & Jamedin, R. (2022). Long-term vaccine delivery and immunological responses using biodegradable polymer-based carriers. *ACS Applied Bio Materials*, 5(11): 5015-5040.
- Manan, A.,2013. Analisis Kondisi Kualitas Air Pada Budidaya Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes Altivelis*) Di Situbondo [Analysis of Water Quality Conditions on Humpback Grouper Culture (*Cromileptes Altivelis*) in Situbondo]. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 5(1): 1-4.
- Muralisankar, T., Kalaivani, P., Thangal, S. H., & Santhanam, P. (2021). Growth, biochemical, antioxidants, metabolic enzymes and hemocytes population of the shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to acidified seawater. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 239, 108843.
- Nankervis, L., Cobcroft, J., Nguyen, N., & Rimmer, M. (2021). Advances in practical feed formulation and adoption for hybrid grouper (*epinephelus fuscoguttatus* × *e. lanceolatus*) aquaculture.

- Reviews in Aquaculture*, 14(1): 288-307.
- Nguyen, T.T.T. Nguyen, Y.T. Wang, P.C. Wang, S.C. Chen, (2017). Effectiveness of formalin-killed vaccines containing CpG oligodeoxynucleotide 1668 adjuvants against *Vibrio harveyi* in orange-spotted grouper, *Fish Shellfish Immunol.* 68: 124-131.
- Pereira, D.M.; Valentão, P.; Pereira, J.A. and Andrade, P.B. (2009). Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules*, 14: 2202–2211.
- Putra, R.B.D.S., Gymnastyar, M.A., Iswahfiudin, Y. and Hertika, A.M.S., 2024. Potensi Daya Hambat Ekstrak *Caulerpa lentillifera* terhadap Mikroba yang Diisolasi dari Penyakit Luka dari Lele: Potensi Daya Hambat Ekstrak *Caulerpa lentillifera* terhadap Mikroba yang Diisolasi dari Penyakit Luka dari Lele. *Jurnal Perikanan Pantura (JPP)*, 7(1): 497-503.
- Putra, R., Hertika, A. M. S., Inggrida, J. A., Putra, A. N. A., Setiawan, F., & Achmadi, A. M. S. (2025). Immunological Response Assessment Through Hematology, Phagocytosis, and Gill Morphology in Hybrid Giant Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* × *E. lanceolatus*) Vaccinated Against *Vibrio harveyi* Using Integrated Whole Cell-Extracellular Product-Nano-Chitosan-*Caulerpa lentillifera* Formulation. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 29(5): 419-441.
- Shen, G., Shi, C., Fan, C., Jia, D., Wang, S., Xie, G., ... & Huang, J. (2017). Isolation, identification and pathogenicity of *Vibrio harveyi*, the causal agent of skin ulcer disease in juvenile hybrid groupers *epinephelus fuscoguttatus* × *epinephelus lanceolatus*. *Journal of Fish Diseases*, 40(10): 1351-1362.
- Shevchenko, N. M., Burtseva, Y. V., Zvyagintseva, T. N., Makar'eva, T. N., Sergeeva, O. S., Zakharenko, A. M., ... & Van Huyen, P. (2009). Polysaccharides and sterols from green algae *Caulerpa lentillifera* and *C. sertularioides*. *Chemistry of Natural Compounds*, 45(1):1-5.
- Sommerset, B. Krossoy, E. Biering, P. Frost. (2005). Vaccines for fish in aquaculture. *Expert Rev Vaccines*. 4: 89-101.
- Suprpto, H., T. Hara, T. Nakai and K. Muroga. (1996). Purification of a Lethal Toxin of *Edwardsiella tarda*. *Fish Pathology*, 31: 203-207
- Yap, W. F.; Tay, V.; Tan, S. H.; Yow, Y. Y. and Chew, J. (2019). Decoding antioxidant and antibacterial potentials of Malaysian green seaweeds: *Caulerpa racemosa* and *Caulerpa lentillifera*. *Antibiotics*, 8(3): 152.
- Yuniarti, D. W., Maftuch and Muhammad Fadjar. (2015). Application of Immunostimulants from *Caulerpa racemosa* Extract to Improve Immune Response of Giant Gourami Fish (*Osphronemus Gouramy*) to *Aeromonas hydrophila* Infection. *J. Life Sci. Biomed*, 5(3): 60-64
- Varvarigos, P. 2005. *Immersion or Injection ? Practical Consideration of Vactination Strategies*. <http://www.vetcare.gr/Fish Vaccination Strategies.htm>. 9 hal.
- Wanda, N., Suryati, S., Meriatna, M., Bahri, S., & Muarif, A. (2023). Perbandingan karakteristik biokomposit kitosan-pektin untuk pembalut luka primer dengan menggunakan cmc (karboksimetil selulosa) dan alginat. *Chemical Engineering Journal Storage (CEJS)*, 3(5): 735-749.
- Zhang, M.; Ma, Y.; Che, X.; Huang, Z.; Chen, P.; Xia, G. and Zhao, M. (2020). Comparative analysis of nutrient composition of *Caulerpa lentillifera* from different regions. *Journal of Ocean University of China*, 19: 439-445.
- Zooneveld, N., E. A. 1991. Huisman and J.H. Boon. *Prinsip-prinsip Budidaya Ikan*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Renanda B.D.S. Putra, Asus M. S. Hertika, Jedda A. Inggrida, Arendra N. A. Putra, Faris Setiawan, Alya M. Su'a Achmadi. 2025. Analisis *Extraceluler Product* Berbasis Nano-Kitosan yang Diperkaya Ekstrak *Caulerpa lentillifera* sebagai Vaksin Oral untuk Kerapu Cantang terhadap Infeksi *Vibrio harveyi*. *Journal of Aquatropica Asia*, 10(2): 139 – 147.
