

**APLIKASI ANTIGEN BAKTERI *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* SEBAGAI
KANDIDAT VAKSIN UNTUK PENCEGAHAN PENYAKIT *STREPTOCOCCOSIS*
PADA IKAN NILA (*OREOCHROMIS SP*)**

*Applications bacteria Streptococcus agalactiae As Antigen Vaccine Candidate for Disease
Prevention Streptococcosis in Tilapia (Oreochromis Sp)*

Sri Dwi Hastuti

Jurusan Agribisnis, Fakultas Pertanian Peternakan
Universitas Muhammadiyah Malang
Email: sridwihastuti@yahoo.com

ABSTRACT

In Indonesia, cases of disease caused by the bacterium Streptococcus sp attack many tilapia fish farming (Supriyadi, 2002), especially those caused by bacterial infection S, agalactiae. To cope with the bacterium Streptococcus infection in farmed fish are usually used antibiotics, but the continuous use of antibiotics and unwisely can lead to bacterial resistance and the impact on the environment. Therefore we need an alternative that is more effective disease control and safe is the vaccine development. During these existing vaccines are vaccines developed from bacterial cells inactivated with formalin or heating. The method used in this study is experimental, with a treatment method of vaccination by injection and oral. For the injection method of treatment dose vaccination 5 tested: 0, 50, 100, 150 and 200 mL / fish tail. As for the oral doses used were 0, 5, 10, 15 and 20 mL / fish. The design used was CRD with each of 3 replications. The results showed that the injection method is better in meproteksi fish against bacterial attack S.agalactiae, because it can provide up to 100% survival after challenge test. The highest antibody titers obtained in the method of injection at a dose of 50 mL, whereas hematocrit and best phagocytic activity at a dose of 200 mL, and the highest leukocrit at a dose of 100 mL. At oral methods can only protect from SR only up 46.67% were obtained at a dose of 20 mL, while for hematocrit and best phagocytic activity at doses of 10 mL, and leukocrit highest in the control treatment.

Keywords: Streptococcus bacteria, vaccines, Tilapia

ABSTRAK

Di Indonesia, kasus penyakit yang disebabkan oleh bakteri Streptococcus sp serangan budidaya ikan nila banyak (Supriyadi, 2002), terutama yang disebabkan oleh infeksi bakteri S, agalactiae. Untuk mengatasi infeksi bakteri Streptococcus pada ikan budidaya biasanya digunakan antibiotik, namun terus digunakan antibiotik dan tidak bijaksana dapat menyebabkan resistensi bakteri dan dampak terhadap lingkungan. Oleh karena itu kita perlu alternatif yang pengendalian penyakit yang lebih efektif dan aman adalah pengembangan vaksin. Selama ini vaksin yang ada vaksin yang dikembangkan dari sel-sel bakteri tidak aktif dengan formalin untuh atau pemanasan. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental, dengan metode pengobatan vaksinasi melalui suntikan dan ORL. Untuk metode injeksi pengobatan dosis vaksinasi 5 diuji: 0, 50, 100, 150 dan 200 mL / ekor ikan. Adapun dosis oral yang digunakan adalah 0, 5, 10, 15 dan 20 mL / ikan. Desain yang digunakan adalah acak lengkap dengan masing-masing 3 ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode injeksi yang lebih baik ikan meproteksi terhadap serangan bakteri S.agalactiae, karena dapat memberikan hingga 100% bertahan hidup setelah ujiantang. Titer antibodi tertinggi diperoleh pada metode injeksi dengan dosis 50 ml, sedangkan hematokrit dan aktivitas fagosit terbaik dengan dosis 200 mL, dan leukocrit tertinggi pada dosis 100 mL. Pada metode lisan hanya dapat melindungi dari SRnya hanya sampai 46.67% diperoleh dengan dosis 20 ml, sedangkan untuk hematokrit dan aktivitas fagosit terbaik pada dosis 10 ml, dan leukocrit tertinggi pada perlakuan kontrol.

Kata kunci: bakteri Streptococcus, vaksin, nila

PENDAHULUAN

Bakteri *Streptococcus* spp. telah menjadi patogen penting pada beberapa spesies ikan yang dibudidayakan. Diantara genus *Streptococcus*, *Streptococcus agalactiae* seringkali diasosiasikan sebagai penyebab wabah penyakit pada beberapa spesies ikan budidaya sehingga menimbulkan kerugian ekonomi yang signifikan (Jafar *et al.*, 2009).

Penyakit yang disebabkan oleh serangan *S. agalactiae* dikenal dengan penyakit streptococcosis. Gejala yang ditimbulkan pada ikan yang mengalami penyakit ini adalah ikan kehilangan nafsu makan, disorientasi, berenang berputar-putar pada permukaan, kadang-kadang diikuti oleh exophthalmia mata dan kornea mata rusak (Filho *et al.*, 2009). Supriyadi (2002) mengatakan bahwa ikan yang terserang penyakit streptococcosis menunjukkan gejala mata menonjol; kembung perut; pendarahan pada mata, tutup insang dan pangkal ekor; warna ikan menjadi lebih gelap; dan ikan berenang cepat tidak karuan. Sedangkan ciri pada organ dalam meliputi kerusakan ginjal, hati, limpa dan usus. Morfologi ikan yang sakit menunjukkan tubuh ikan berbentuk huruf C, mata menonjol dan terjadi perdarahan, dan kadang-kadang ikan menjadi berwarna gelap (Anonymous, 2009).

Tindakan yang sering dilakukan untuk mengatasi infeksi bakteri *Streptococcus* adalah dengan menggunakan antibiotika, namun penggunaan antibiotika dapat menimbulkan resistensi bakteri dan dampak terhadap lingkungan. Oleh karena itu diperlukan alternatif kontrol penyakit yang lebih efektif dan aman yaitu dengan pengembangan vaksin dengan ekstraksi antigen sehingga diperoleh vaksin yang efektif dalam mencegah serangan bakteri *S. agalactiae*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan selama dua tahun, dengan menggunakan metode

eksperimen di laboratorium. Penelitian tahun pertama telah selesai dilaksanakan dengan hasil karakter bakteri *S. agalactiae*, antigen bakteri dengan metode ekstraksi autoklaf dan terdeteksinya titer antibodi pada serum darah ikan yang divaksin dengan antigen bakteri tersebut.

Penelitian tahun kedua ini merupakan kelanjutan penelitian tahun pertama. Pada percobaan ini bertujuan untuk menguji efektivitas kandidat vaksin pada ikan secara laboratorium, untuk mengetahui dosis dan metode vaksinasi yang tepat untuk pencegahan Streptococcosis pada ikan. Secara lengkap tahapan dalam penelitian untuk tahun kedua adalah sebagai berikut :

Prosedur Penelitian

Tahap I Ekstraksi Antigen Bakteri

Ekstraksi Antigen dari isolat bakteri *S. agalactiae* dilakukan dengan metode sebagaimana yang dilakukan oleh (Pier *et al.*, 1978). Prosedur kerja yang dilakukan adalah : Bakteri *S. agalactiae* ditumbuhkan pada media BHI selama 18-24 jam, kemudian disentrifus selama 10 menit pada 10.000 g, supernatant dibuang dan pelet dicuci dengan larutan NaCl fisiologis sebanyak 2-5 ml (tergantung jumlah pelet), lalu disentrifus kembali selama 10 menit pada 10.000 g. Selanjutnya pelet ditambahkan dengan 0,35 ml (tergantung jumlah pelet) NaCl fisiologis, dihomogenkan, kemudian ditambah setetes indikator merah fenol atau penolphtalein. Jika suspensi yang telah diberi penolphtalein masih bening maka harus dinetralkan dengan NaOH atau KOH 0,1N hingga suspensi berwarna merah. Kemudian diautoklaf selama 15 menit (121° C; 15 lbs). Suspensi didinginkan, lalu disentrifus selama 10 menit pada 10.000 g. Pelet dibuang, sementara supernatant disimpan antigen sebagai antigen.

Tahap II. Uji Efektifitas Vaksin di Laboratorium

Vaksinasi ikan dengan kandidat vaksin pada skala laboratorium dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap pada masing-masing metode. Metode vaksinasi yang dilakukan yaitu vaksinasi dengan injeksi intraperitoneal (I), dan oral/cekok (O) dengan masing-masing 5 perlakuan dosis vaksin. Setelah dua minggu akan dilakukan ujiantang dengan bakteri *S.agalactiae*. Langkah kerja untuk masing-masing adalah sebagai berikut :

- **Metode Injeksi Intraperitoneal (I)**, Dosis vaksinasi yang diujicobakan pada metode injeksi adalah 0 µl, 50 µl, 100 µl, 150 µl dan 200 µl/ekor. Sebelum divaksin ikan diaklimatisasi dulu selama 1 minggu. Vaksin dimasukkan kedalam spuit 1 ml, buang gelembung udara yang terjebak didalam spuit dengan cara mengetuk-ketuk spuit dan mendorong gelembung udara keluar jarum. Pindahkan ikan yang akan divaksin dari akuarium pemeliharaan ke dalam ember cadangan. Jaring seser yang halus dapat digunakan untuk membantu memegang ikan yang akan divaksin agar tenang dan tidak lompat. Ikan sebaiknya dibius untuk mengurangi stres. Dengan menggunakan tangan kiri pegang ikan dengan posisi mendatar. Suntikkan jarum sedalam ± 0,4 cm, injeksikan vaksin sesuai dengan dosis pada bagian rongga perut ikan. Masukkan kembali ikan yang sudah divaksin kedalam media pemeliharaan.
- **Metode Oral/Cekok (O)**, Dosis vaksinasi yang diujicobakan pada metode O adalah 0 µl; 5 µl; 10 µl; 15 µl; dan 20 µl/ekor ikan. Sebelum divaksin ikan diaklimatisasi dulu selama 1 minggu. Vaksin diambil dengan mikro pipet sesuai dengan dosis perlakuan, kemudian ikan yang akan divaksin dipegang pada bagian punggung dan kepalanya,

kemudian dibuka mulutnya selanjutnya vaksin dimasukkan ke dalam mulut kemudian mulut ditutup, dan ikan dikembalikan lagi ke akuarium pemeliharaan.

Parameter Uji

Parameter yang diukur pada percobaan ini adalah titer antibodi, hematokrit, leukokrit, aktifitas fagositosis, serta kelulushidupan setelah ujiantang dengan bakteri *Streptococcus agalactiae*. Data yang diperoleh dianalisa dengan Anava dan dilanjutkan dengan uji BNT. Luaran yang diharapkan adalah metode vaksinasi dan dosis vaksin yang paling efektif.

- **Titer antibody** (Thune and Plumb, 1988) dengan prosedur : Mengambil serum dari darah ikan yang sudah disuntik antigen, melakukan pengamatan dengan lempeng mikrodilution yaitu dengan cara mengisi sumur no 2 sampai dengan no 12 dengan 25 µl PBS, mengisi sumur no 1 dan no 2 dengan 25 µl anti serum. Selanjutnya melakukan pengenceran dengan cara mengambil 25 µl larutan menggunakan garpu mikrotiter dari sumur no 2 sampai dengan no 11 kemudian menambahkan antigen dari bakteri sebanyak 25 µl dari sumur 1 sampai dengan no 12 dan menutup lempeng mikrodilution, menggoyang-goyangkannya selama 3 menit dan mendiamkannya selama 1 jam kemudian disimpan dalam refrigerator selama 24 jam.
- **Level Hematokrit dan Leukokrit;** berdasarkan metode Anderson dan Siwicki (1994). Persentase volume eritrosit dan leukosit dalam darah (hematocrit dan leucocrit level) dengan cara:
 - Darah diambil dari ikan yang telah dibius dengan minyak cengkeh.

- Antikoagulan dipergunakan dalam pengambilan sampel ini dengan cara membasahi spoit dengan EDTA 10%.
 - Darah ikan sample yang telah diambil ditampung dalam mikrotube.
 - Kapiler hematokrit diisi hingga batas volume dan ditutup dengan penutup yang tersedia (Vitrex).
 - Kapiler hematokrit kemudian disentrifuse pada 1000 rpm selama 5 menit.
 - Panjang endapan eritrosit dan leukosit pada kapiler hematokrit diukur dengan penggaris kemudian dihitung persentase volumenya.
- **Uji Aktifitas Fagositosis**
 - Setelah melakukan pengukuran hematokrit dan leukokrit, kapiler hematokrit kemudian dipotong pada batas antara eritrosit dan leukosit
 - Bagian leukosit ditampung pada mikrotube
 - Leukosit sebanyak 100 dimasukkan pada mikroplate well, kemudian ditambah dengan *Aeromonas hydrophila* (kepadatan 10^8 sel/ml) dengan volume yang sama.
 - Campur leukosit dengan *Aeromonas hydrophila* dengan cara pipeting. Inkubasi selama 20 menit.
 - Ambil 5 ul sampel dari mikroplate well, kemudian diletakkan diatas obyek glas dan dibuat preparat ulas. Diamkan hingga kering angin.
 - Fiksasi dengan ethanol/methanol (95%) selama 5 menit, kering anginkan.
 - Warnai dengan safranin (0,15%) atau Giemsa (7%) selama 10 menit
 - Diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 X.
 - Aktifitas fagositosis = (jumlah sel fagosit/jumlah sel yang diamati) X 100%

- **=Tingkat Kelulushidupan / Survival Rate (SR)** dihitung dengan rumus :

$$SR(\%) =$$

$$\frac{\text{Jumlah ikan yang hidup pada akhir penelitian}}{\text{Jumlah ikan pada awal penelitian}}$$

$$\times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Vaksin dan Penyuntikan Ikan Uji

Kultur atau perbanyak bakteri *Streptococcus agalactiae* dalam media cair dilakukan di Lab Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang. Sebagaimana penelitian tahun pertama perbanyak bakteri menggunakan media BHI (Brain Heart Infusion). Perbanyak pertama bakteri dikultur sebanyak 2 liter. Karena pertumbuhan bakteri lambat pada media cair sehingga diputuskan untuk memperbanyak bakteri sebagai bahan vaksin menggunakan media padat BHIA sebanyak sepuluh petri. Pertumbuhan pada media padat cukup cepat dan bagus. Kemudian bakteri dipanen dengan spatula dan selanjutnya dilarutkan dalam media PBS(Phosfat Buffer Saline) sebanyak 3,5 liter sehingga diperoleh bakteri dalam media cair yang siap untuk diambil selnya untuk diekstraksi menjadi vaksin.

Ekstraksi Antigen bakteri dilakukan di Lab Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Metode ekstraksi untuk mendapatkan antigen sebagai kandidat vaksin dilakukan sebagaimana yang dilakukan oleh (Pier *et al*, 1978). Metode ekstraksi antigen yang digunakan yaitu ekstraksi dengan Autoklaf. Dari 2 liter kultur bakteri yang pertama dihasilkan antigen sebanyak 4 ml. Hasil ini sangat sedikit dikarenakan kultur bakteri pertumbuhannya sangat lambat,

sehingga pellet yang didapat dari 2 liter biakan bakteri sangat sedikit. Oleh karena itu pada kultur bakteri yang kedua dilakukan di media padat kemudian setelah pertumbuhannya maksimal dipindahkan ke PBS, sehingga diperoleh 3,5 liter suspensi bakteri pada media PBS. Dari 3,5 liter suspensi bakteri ini bisa dihasilkan sebanyak 16,5 ml antigen sebagai calon vaksin kemudian akan diaplikasikan pada ikan nila uji secara injeksi (suntik) dan oral (cekok).

Aplikasi antigen bakteri dilakukan pada ikan nila uji dengan memakai dua metode yaitu metode injeksi dan oral. Untuk masing-masing metode digunakan sebanyak 5 ekor ikan nila per akuarium, dengan jumlah perlakuan 5 untuk masing-masing metode dan ulangan sebanyak 3 kali. Untuk metode injeksi perlakuan dosis adalah sebagai berikut : 0 μ l, 50 μ l, 100 μ l, 150 μ l dan 200 μ l. Sementara untuk metode oral dosis yang digunakan adalah sebagai berikut : 0 μ l, 5 μ l, 10 μ l, 15 μ l, dan 20 μ l.

Pada metode injeksi penyuntikan dilakukan secara intraperitoneal yaitu pada bagian perut, penyuntikan dilakukan secara hati-hati karena dekat dengan organ dalam. Sementara untuk metode cekok, ikan diambil dan dibuka mulutnya kemudian vaksin langsung diteteskan ke dalam mulut ikan. Setelah dilakukan penyuntikan sesuai

perlakuan dan ulangan, kemudian ikan uji dikembalikan ke dalam akuarium. Ikan kemudian dipelihara pada kondisi lingkungan yang memenuhi syarat dengan tetap mengamati dan mengontrol kualitas airnya. Setelah satu minggu maka dilakukan vaksinasi ulang (booster) dengan tujuan untuk lebih meningkatkan titer antibodi ikan. Pada minggu ketiga atau seminggu setelah vaksinasi yang kedua (booster) dilakukan sampling darah ikan untuk diukur titer antibodinya, dan dilakukan pengukuran hematologinya (hematokrit, leukokrit dan aktifitas fagositosis).

Pengujian Titer Antibodi

Pengukuran titer antibodi bertujuan untuk mengetahui efektifitas vaksin atau respon antibodi terhadap antigen yang dimasukkan dalam tubuh ikan atau mengetahui pengaruh vaksinasi terhadap jumlah antibodi dalam serum benih ikan (Alifudin, 2002). Respon antibodi ikan diekspresikan dengan adanya aglutinasi terhadap antigen terlarut (Nitimulyo dan Triyanto, 1990).

Titer antibodi ikan Nila uji untuk metode vaksinasi secara injeksi dan oral disajikan pada tabel 1 dan 2 berikut ini :

Tabel 1. Hasil Pengukuran Titer Antibodi Metode Injeksi

Perlakuan	Ulangan	Titer Antibodi											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
I1	U1	+++	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	U2	+++	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	U3	+++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
I2	U1	+++	+++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+
	U2	+++	+++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+
	U3	+++	+++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	-
I3	U1	+++	++	++	++	+	+	+	+	+	-	-	-
	U2	+++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	U3	+++	++	++	++	+	+	+	+	+	-	-	-
I4	U1	+++	++	++	++	+	+	+	+	-	-	-	-
	U2	+++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	-
	U3	+++	++	++	+	+	+	+	+	+	-	-	-
I5	U1	+++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	U2	+++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	U3	+++	++	++	++	+	+	+	+	+	-	-	-

Keterangan :
 +++ : Tinggi
 ++ : Sedang
 + : Rendah
 - : Aglutinasi tidak terdeteksi

Tabel 2. Hasil Pengukuran Titer Antibodi Metode Oral

Perlakuan	Ulangan	Titer Antibodi (sumuran ke-)											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
O1	U1	+++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	U2	+++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	U3	+++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O2	U1	+++	++	++	++	++	+	-	-	-	-	-	-
	U2	+++	++	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-
	U3	+++	++	++	++	++	++	+	-	-	-	-	-
O3	U1	+++	++	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-
	U2	+++	++	++	++	++	+	+	+	+	-	-	-
	U3	+++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	-
O4	U1	+++	++	++	++	+	+	+	+	-	-	-	-
	U2	+++	++	++	++	++	+	+	+	-	-	-	-
	U3	+++	++	++	++	+	+	+	+	+	-	-	-
O5	U1	+++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+
	U2	+++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	-
	U3	+++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan :
 +++ : Tinggi
 ++ : Sedang
 + : Rendah
 - : Aglutinasi tidak terdeteksi

Dari tabel 1 dan 2 diatas dapat diketahui bahwa titer antibodi terbaik pada metode injeksi didapatkan pada perlakuan dosis I2 (50 µl/ekor ikan), sementara pada metode oral titer antibodi terbaik diperoleh pada perlakuan dosis O5 (20 µl/ekor ikan).

Hasil pengukuran titer antibodi baik pada metode injeksi maupun oral menunjukkan bahwa titer antibodi pada perlakuan ikan yang divaksin lebih tinggi dibandingkan perlakuan kontrol (tanpa vaksinasi). Hal ini menunjukkan bahwa vaksinasi dapat meningkatkan titer antibodi pada serum darah ikan. Pada perlakuan kontrol masih ditemukan titer antibodi biarpun jumlahnya sedikit. Ini mengindikasikan bahwa sebenarnya secara alami ikan Nila sudah mempunyai sistem kekebalan tubuh. Vaksinasi akan memacu sistem kekebalan alami sehingga terjadi peningkatan titer antibodi.

Peningkatan titer antibodi pada ikan yang divaksin mengindikasikan adanya pengaktifan respon imun spesifik terhadap antigen (whole cell) *A. salmonicida*. Berdasarkan dari respon imun terhadap antigen, antigen dibedakan menjadi dua jenis yaitu antigen ekstraseluler dan antigen intraseluler. Antigen ekstraseluler merupakan antigen yang masuk ke dalam tubuh inang tetapi tidak sampai masuk ke dalam sel, hanya berada di luar sel. Secara alamiah antigen ekstraseluler terjadi pada infeksi bakteri pada umumnya, parasit, dan jamur. Sedangkan antigen intraseluler merupakan antigen yang mampu menginfeksi sampai ke dalam sel seperti pada infeksi virus dan beberapa bakteri yang mampu menginfeksi ke dalam sel (Setyawan, et al, 20jurnal Aquasains,

Antibodi bereaksi spesifik dengan antigen membentuk senyawa kompleks berupa endapan (presipitat) dan gumpalan (aglutinat) ditunjukkan melalui uji imunopresipitasi (imunodifusi) Agar Gel Precipitation Test (AGPT) atau uji aglutinasi. Antibodi berperan sebagai *presipitin* dan *agglutinin*, cara lain antibodi menghalangi efek antigen dengan cara blokade, yaitu

bereaksi dengan epitop antigen sehingga antigen tidak mampu mengenal reseptor sel inang menyebabkan kegagalan proses perlekatan antigen pada permukaan sel inang (antibodi bertindak sebagai *inhibin*). Selain itu antibodi untuk mempercepat eliminasi antigen dengan proses opsonisasi (antibodi sebagai *opsonin*). Antigen dalam keadaan teropsonisasi lebih mudah dikenal makrofag dan lebih efektif untuk dihancurkan (Anderson, 1974 dalam Hardi, 2011).

Menurut Tizard (1988), antibodi yang jumlah dan konsentrasinya lebih banyak dalam serum darah merupakan penangkal serangan agen penyakit masuk ke dalam tubuh. Terbentuknya antibodi spesifik dimulai dengan masuknya antigen yaitu *S. agalactiae* ke dalam tubuh ikan dan difagositosis oleh makrofag. Makrofag akan memberi rangsangan ke sel limfosit untuk memproduksi antibodi sesuai jenis antigen yang masuk. Pembentukan antibodi dipengaruhi oleh faktor suhu, dosis, cara, umur dan bobot serta sifat antigen (Tizard, 1988; Ellis, 1988).

Hal ini menunjukkan bahwa ikan Nila dengan dosis 0 µl (kontrol) masih memiliki kekebalan tubuh yang digunakan untuk merespon titer antibodi, namun masih dalam skala yang sangat rendah.

Hasil pemeriksaan terhadap titer antibody dengan metode *direct agglutination* menunjukkan adanya perbedaan titer antibodi antara ikan yang diberikan perlakuan dan ikan kontrol. Titer antibodi pada ikan yang diberikan perlakuan relatif lebih tinggi dari ikan kontrol. Hal ini mengindikasikan bahwa vaksin mampu menstimulasi kekebalan pada tubuh ikan uji. Tizard (1988) mengatakan bahwa beberapa faktor yang mempengaruhi respon antibodi adalah dosis vaksin, waktu pemberian vaksin, antigenitas dari bakteri, dan respon immunogenik ikan yang di vaksin.

Studi tentang pengembangan vaksin untuk mencegah infeksi *S. agalactiae* pada ikan telah dilakukan oleh Evans *et al.*, (2004) yang melaporkan bahwa vaksin yang dikembangkan dengan melemahkan bakteri

dengan formalin 3 % dapat melindungi ikan nila dari serangan bakteri *S. agalactiae* setelah uji tantang. Sementara itu Lusiasuti *et al.*, (2010) menyatakan bahwa vaksinasi dengan seluruh sel (whole cell) secara injeksi memberikan efek proteksi dan kelulushidupan sebesar 18-24% setelah uji tantang.

Peningkatan titer antibodi pada ikan yang divaksin mengindikasikan adanya pengaktifan respon imun spesifik terhadap antigen (whole cell *A. salmonicida*). (Setyawan, *et al.*, 2010 *Jurnal Aquasains*,

Antibodi bereaksi spesifik dengan antigen membentuk senyawa kompleks berupa endapan (presipitat) dan gumpalan (aglutinat) ditunjukkan melalui uji imunopresipitasi (imunodifusi) Agar Gel Precipitation Test (AGPT) atau uji aglutinasi. Antibodi berperan sebagai *presipitin* dan *agglutinin*, cara lain antibodi menghalangi efek antigen dengan cara blokade, yaitu bereaksi dengan epitop antigen sehingga antigen tidak mampu mengenal reseptor sel inang menyebabkan kegagalan proses perlekatan antigen pada permukaan sel inang (antibodi bertindak sebagai *inhibin*). Selain itu antibodi untuk mempercepat eliminasi antigen dengan proses opsonisasi (antibodi sebagai *opsonin*). Antigen dalam keadaan teropsonisasi lebih mudah dikenal makrofag dan lebih efektif untuk dihancurkan (Anderson, 1974 dalam Hardi, 2011).

Level Hematokrit

Level hematokrit dalam darah ikan dapat memberikan petunjuk tentang kondisi kesehatan ikan dan menentukan adanya ketidaknormalan pemberian antigen bakteri *Streptococcus agalactiae* secara injeksi. Perbandingan hasil pengukuran level hematokrit pada metode injeksi dan oral dapat dilihat pada tabel 3 dan 4

Tabel 3. Hematokrit Darah pada Metode Injeksi (%)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
I1 (0 µl)	35,59	20,68	17,24	73,51	24,50
I2 (50 µl)	27,64	19,35	38,65	85,64	28,54
I3 (100 µl)	11,66	8,47	20	40,13	13,37
I4 (150 µl)	15,25	20,33	13,55	49,13	16,37
I5 (200 µl)	30,64	24,59	37,09	92,32	30,77
Total				340,73	113,55

Tabel 4. Hematokrit Darah pada Metode Oral

Perlakuan (E)	Ulangan (U)			Total	Rataan
	1	2	3		
O1(0µl/ekor)	12	24	16	52	17.33
O2(5µl/ekor)	26	29	19	74	24.67
O3(10µl/ekor)	30	28	34	92	30.67
O4(15µl/ekor)	24	31	28	83	27.67
O5(20µl/ekor)	17	22	13	52	17.33
Total	109	134	110	353	117.67

Hasil pengukuran level hematokrit pada ikan uji yang divaksin secara injeksi intraperitoneal, menunjukkan bahwa level hematokrit terbaik didapat pada perlakuan dosis 200 µl dengan nilai hematokrit rata-rata adalah 30,77 %, sedangkan yang terendah didapat pada perlakuan dosis 100 dan 150 µl/ekor ikan, dengan nilai 13,37 % dan 16,37 %. Sementara level hematokrit tertinggi pada metode oral didapat pada perlakuan dosis 10µl dengan nilai hematokrit sebesar 30,67 %, dan yang terendah pada perlakuan 0 dan 20 µl/ekor ikan. Nilai hematokrit pada penelitian ini berfluktuasi baik pada perlakuan vaksinasi secara injeksi maupun secara oral. Namun demikian Bond (1977) menyatakan bahwa batasan normal hematokrit ikan nila yaitu sebesar 27,3 – 37,8%.

Nilai hematokrit yang rendah menandakan volume eritrosit rendah, sehingga ikan akan mengalami anemia. Alifuddin (1993) yang menyatakan bahwa apabila eritrosit ikan tinggi menandakan adanya upaya homeostatis pada tubuh ikan (infeksi patogen) dalam tubuh memproduksi sel darah lebih untuk menggantikan eritrosit yang mengalami infeksi sehingga akan menjadikan ikan stres. Sedangkan eritrosit yang rendah ikan menunjukkan ikan mengalami gejala anemia.

Data hasil pengukuran hematokrit pada kedua metode kemudian dianalisis dengan analisis varian untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh antara perlakuan dengan penggunaan berbagai dosis. Analisis varian hematokrit disajikan pada tabel 5 dan 6.

Tabel 5. Tabel Analisa Sidik Ragam Hematokrit Metode Injeksi

Sumber Variasi	Db	JK	KT	Fhitung	F.tabel 0,05	0,01
Perlakuan	4	742,3504	185,5876	3,4568*	0,050801	3,47805
Galat	10	536,8769	53,68769			
Total	14	1279,227				

Keterangan : * Berpengaruh nyata ($F_{\text{tabel } 0,05} < F_{\text{hitung}} < F_{\text{tabel } 0,01}$)

Tabel 6. Tabel Analisa Sidik Ragam Hematokrit Metode Oral

Sumber Varian	Ftabel					
	Db	JK	KT	Fhitung	0.05	0.01
Perlakuan	4	438.4	109.6	5.19*	3.48	5.98
Galat	10	211.33	21.133			
Total	14	649.73				

Keterangan : * Berpengaruh nyata ($F_{\text{tabel}} < F_{\text{hitung}} < F_{\text{tabel}} 0,01$)

Data perhitungan analisis varian hematokrit ikan nila uji pada metode injeksi maupun oral menunjukkan bahwa perlakuan dosis vaksinasi yang berbeda berpengaruh nyata terhadap level hematokrit, dimana $F_{\text{tabel}} < F_{\text{hitung}} < F_{\text{tabel}} 0,01$.

Oleh karena perlakuan berpengaruh nyata maka selanjutnya dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui dosis perlakuan yang terbaik, tabel uji BNT disajikan pada tabel 7 dan 8 berikut

Hasil 7. Hasil Uji BNT Hematokrit Metode Injeksi

Perlakuan	Perlakuan					Notasi
	A3	A4	A1	A2	A5	
	13,37	16,37	24,5	28,54	30,77	
I3	13,37	-				a
I4	16,37	3 ^{tn}	-			a
I1	24,5	11,13 ^{tn}	8,13 ^{tn}	-		a
I2	28,54	15,17*	12,17 ^{tn}	4,04 ^{tn}	-	a
I5	30,77	17,4*	14,4*	6,27 ^{tn}	2,23 ^{tn}	b

Keterangan :

tn = tidak berbeda nyata

* = berbeda nyata

** = berbeda sangat nyata

Tabel 8. Hasil Uji BNT Hematokrit Metode Oral

	E3(30.67)	E2(27.67)	E4(24.67)	E1(17.33)	E5(17.33)	Notasi
O3(30.67)	-	-	-	-	-	a
O2(27.67)	3 ^{tn}	-	-	-	-	a
O4(24.67)	6 ^{tn}	3 ^{tn}	-	-	-	a
O1(17.33)	13.34**	10.34*	7.34 ^{tn}	-	-	b
O5(17.33)	13.34**	10.34*	7.34 ^{tn}	-	-	b

Keterangan :

tn = tidak berbeda nyata

* = berbeda nyata

** = berbeda sangat nyata

Perlakuan dosis yang terbaik pada metode Injeksi secara intraperitoneal adalah pada perlakuan I5 (dosis 200 µl/ekor ikan). Sementara untuk metode oral perlakuan O1 dan O5 sama-sama terbaik. Level hematokrit yang tinggi menentukan bahwa ikan dalam kondisi baik dan sehat sedangkan level hematokrit yang rendah mengindikasikan bahwa ikan secara fisiologis dalam kondisi yang tidak sehat (Schalm et al, 1975). Hastuti (2010) menyatakan bahwa hasil percobaan

evaluasi pertahanan non spesifik ikan nila Gift (*Oreochromis sp*) yang diinjeksi dengan LPS (Lipopolysaccharida) bakteri *Aeromonas hydrophila* menunjukkan rata-rata level hematokrit tertinggi sebesar 23,33 %. Rachmawati (2010) menyatakan bahwa hasil percobaan respon fisiologis ikan nila (*Oreochromis sp*) yang distimulasi dengan daur pemuasaan dan pemberian pakan kembali menunjukkan rata-rata level hematokrit tertinggi sebesar 37,84 %.

Level Leukokrit

Leukosit merupakan sel darah yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh.

Leukosit membantu membersihkan tubuh dari benda asing, termasuk invasi patogen melalui sistem tanggap kebal dan respon lainnya. Ikan yang sakit akan menghasilkan banyak leukosit

untuk memfagosit bakteri dan mensintesa antibodi (Janeway dkk., 2001). Hasil pengukuran level leukokrit disajikan pada tabel 9 dan 10 berikut:

Tabel 9. Leukokrit pada Metode Injeksi (%)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
I1 (0 µl)	8,474	1,724	6,896	17,09	5,698
I2 (50 µl)	0,813	1,612	0,840	3,265	1,088
I3 (100 µl)	1,666	15,25	3,076	19,99	6,664
I4 (150 µl)	6,779	3,389	8,474	18,64	6,214
I5 (200 µl)	4,838	9,836	1,612	16,28	5,428
	Total			75,26	25,092

Tabel 10. Leukokrit pada Metode Oral (%)

Perlakuan (E)	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
O1(0µl/ekor)	4	5	24	33	11
O2(5µl/ekor)	5	4	3	12	4
O3(10µl/ekor)	3	10	6	19	6.33
O4(15µl/ekor)	2	9	5	16	5.33
O5(20µl/ekor)	5	2	22	29	9.67
	Total			109	36.33

Hasil pengukuran level leukokrit pada kedua metode vaksinasi dan pada berbagai dosis perlakuan menunjukkan hasil yang tidak konsisten atau berfluktuasi. Namun level leukokrit tertinggi pada metode injeksi diperoleh pada perlakuan dosis 100 µl/ ekor ikan dengan nilai 6,66%, sementara untuk metode oral level leukokrit tertinggi didapat pada dosis kontrol (0 µl/ekor ikan) dengan nilai 11. Bond (1977) menyatakan bahwa kisaran normal leukokrit ikan nila yaitu 4 – 10 %. Meningkatnya leukokrit bisa menunjukkan

adanya infeksi pada tahap awal atau ikan dalam kondisi stress. Kondisi leukokrit ikan juga sangat tergantung pada kondisi ikan pada saat disampling, lama waktu antara sampling dan pengukuran darah serta prosedur pengukuran yang digunakan (Anderson dan Siwicki, 1994). Data nilai leukokrit selanjutnya dianalisa sidik ragam untuk mengetahui pengaruh dosis perlakuan terhadap nilai leukokrit, hasil analisa sebagaimana tersaji pada tabel 11 dan 12 berikut :

Tabel 11. Analisa Sidik Ragam Leukokrit Metode Injeksi

Sumber Variasi	db	JK	KT	Fhitung	F.tabel 0,05	0,01
Perlakuan	2	13,81902	6,909508	0,35818 ^{tn}	0,706172	3,885294
Galat	12	231,4869	19,29058			
Total	14	245,3059				

Keterangan : tn = tidak berpengaruh nyata (Fhitung < Ftabel 0,05 dan 0,01)

Tabel 12. Analisis Sidik Ragam Leukokrit Metode Oral

Sumber Varian	Db	JK	KT	Fhitung	Ftabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	4	104.93	26.2325	0.49 ^{tn}	3.48	5.98
Galat	10	538	53.8			
Total	14	649.93				

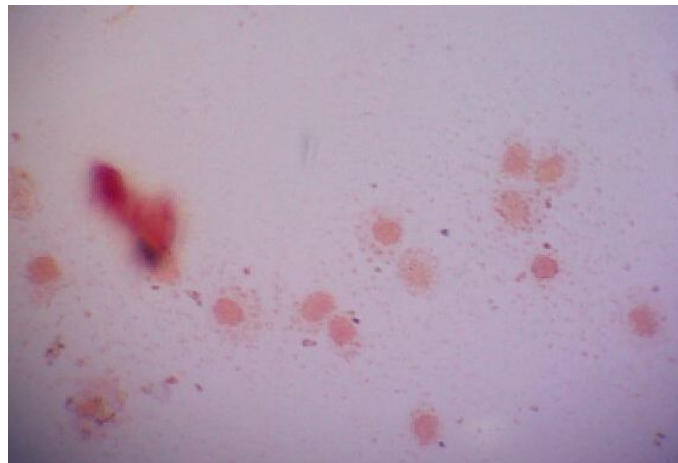
Keterangan : tn = tidak berpengaruh nyata (F hitung < F tabel 0,05 dan 0,01)

Tabel 11 dan 12 menunjukkan hasil perhitungan analisis varian nilai leukokrit, dimana pada perlakuan injeksi maupun oral ternyata perlakuan berbagai dosis vaksin tidak berpengaruh nyata terhadap nilai leukokrit. Oleh karena itu tidak dilanjutkan dengan uji BNT.

Aktifitas Fagositosis

Fagositosis merupakan mekanisme pertahanan dalam tubuh suatu organisme dengan cara menelan benda asing dan kemudian menghancurkannya (Kamiso dan

Triyanto, 1990). Fagositosis adalah suatu mekanisme pertahanan alamiah terhadap penyakit. Sedangkan aktifitas fagositosis yaitu dimakannya atau ditelannya benda – benda partikulat oleh sel – sel tertentu (Michael dan Chan, 2008). Sel – sel fagosit terdiri dari monosit, makrofag, dan granulosit. Sel – sel fagosit akan mengenali dan menelan partikel – partikel antigenik, termasuk bakteri dan sel – sel inang yang rusak melalui tiga tahapan proses yaitu pelekatan, fagositosis, dan pencernaan (Irianto, 2005). Hasil pengamatan aktifitas fagositosis terhadap ikan nila dapat dilihat pada gambar 1 berikut :



Gambar 8. Aktifitas Fagositosis. Tanda panah menunjukkan sel yang memfagosit Bakteri (Pembesaran 100 X)

Aktifitas makrofag selain diakibatkan oleh interaksi langsung dengan agen penginvansi seperti mikroorganisme, dapat juga diaktifkan oleh produk limfosit (limfokin) dirangsang oleh antigen. Sekali sel makrofag diaktifkan maka akan menunjukkan aktifitas metaboliknya yaitu untuk memfagositosis dan membunuh kuman serta memproses kuman tersebut (Abbas et.al., 1991). Lisosom menuju fagosom membentuk fakusom, kemudian

akan melebur kedalam rongga sambil mengeluarkan enzim untuk menghancurkan antigen serta mencernanya (Spector, 1993)

Mekanisme terjadinya proses fagositosis dapat dijelaskan sebagai berikut: supaya dapat terjadi fagositosis sel – sel fagosit tersebut harus berada dalam jarak yang dekat dengan partikel bakteri, atau partikel tersebut harus melekat pada permukaan partikel.

Tabel 13. Aktivitas Fagositosis Metode Injeksi (%)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-Rata
	1	2	3		
I1 (0 µl)	10	20	16	46	15,33
I2 (50 µl)	28	30	35	93	31
I3 (100 µl)	20	43	32	95	31,66
I4 (150 µl)	30	23	32	85	28,33
I5 (200 µl)	39	49	47	135	45
Total				454	151,32

Tabel 14. Aktifitas Fagositosis Metode Oral (%)

Perlakuan (E)	Ulangan (U)			Total	Rata-rata
	1	2	3		
O1(0 μ l/ekor)	4	4	5	13	4.33
O2(5 μ l/ekor)	37	31	30	98	32.67
O3(10 μ l/ekor)	37	53	49	139	46.33
O4(15 μ l/ekor)	32	57	49	138	46
O5(20 μ l/ekor)	37	32	68	137	45.67
Total	147	177	201	525	175

Pada perlakuan dengan metode injeksi diperoleh hasil bahwa aktifitas fagositosis tertinggi diperoleh pada perlakuan dosis 200 μ l/ ekor ikan, dengan nilai 45 %, sementara untuk metode oral perlakuan terbaik diperoleh

pada perlakuan dosis 10 μ l/ekor ikan, dengan nilai aktifitas fagositosis sebesar 46,33 %. Data aktifitas fagositosis selanjutnya dianalisis dengan anava, hasil perhitungan terdapat pada tabel 15 dan 16.

Tabel 15. Analisis Sidik Ragam Aktivitas Fagositosis Metode Injeksi

Sumber Variasi	dB	JK	KT	Fhitung	Ftabel 0,05	Ftabel 0,01
Perlakuan	4	1338,933	334,7333	7,573152**	0,004481	3,47805
Galat	10	442	44,2			
Total	14	1780,933				

Keterangan : ** = berpengaruh sangat nyata (Fhitung > Ftabel 0,01 > Ftabel 0,05)

Tabel 16. Analisis Sidik Ragam Aktifitas Fagositosis Metode Oral

Sumber Varian	Db	JK	KT	Fhitung	Ftabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	4	3927.33	981.8325	7.82**	3.48	5.98
Galat	10	1254.67	125.467			
Total	14	5182				

Keterangan : ** = berpengaruh sangat nyata (F hitung > F tabel 0,01 > Ftab 0,05)

Hasil analisis untuk metode injeksi maupun oral menunjukkan bahwa pemberian antigen *Streptococcus agalactiae* dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh sangat nyata terhadap level aktivitas fagositosis ikan nila. Hal ini karena F hitung

> F tabel pada taraf 0,01. Oleh karena itu dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perlakuan yang terbaik. Hasil Uji BNT dapat dilihat pada Tabel 17 dan 18.

Tabel 17. Tabel Uji BNT ktivitas Fagositosis Metode Injeksi

Perlakuan	A1	A4	A2	A3	A5	notasi	
	15,33	28,33	31	31,66	45		
A1	15,33	-				a	
A4	28,33	13*	-			b	
A2	31	15,67*	2,67 ^{tn}	-		b	
A3	31,66	16,33*	3,33 ^{tn}	0,66 ^{tn}	-	b	
A5	45	29,67**	16,67*	14 ^{tn}	13,34*	-	ab

Keterangan :

tn = tidak berbeda nyata

* = berbeda nyata

** = berbeda sangat nyata

Tabel 18. Uji BNT Vaksin Terhadap Nilai Aktifitas Fagositosis Ikan Nila

	E3(46.33)	E4(46)	E5(45.67)	E2(32.67)	E1(4.33)	Notasi
E3(46.33)	-	-	-	-	-	a
E4(46)	0.33 ^{tn}	-	-	-	-	a
E5(45.67)	0.66 ^{tn}	0.33 ^{tn}	-	-	-	a
E2(32.67)	13.66 ^{tn}	13.33 ^{tn}	13 ^{tn}	-	-	a
E1(4.33)	42**	41.67**	41.34**	28.34*	-	b

Keterangan :

- tn = tidak berbeda nyata
 * = berbeda nyata
 ** = berbeda sangat nyata

Hasil uji BNT pada perlakuan dengan metode injeksi menunjukkan bahwa semua perlakuan kecuali kontrol memberikan hasil yang tidak berbeda nyata. Ini berarti bahwa vaksinasi memberikan dampak terhadap peningkatan aktifitas fagositosis jika dibandingkan dengan ikan yang tidak divaksinasi, walaupun dosis vaksinasi yang berbeda ternyata memberikan hasil yang hampir sama secara statistik. Hal ini terjadi pula pada perlakuan dengan metode oral, dimana perlakuan O2 sampai O5 menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata, dan hanya berbeda dengan perlakuan kontrol. Ini juga membuktikan bahwa pemberian vaksinasi bisa meningkatkan sistem kekebalan pada ikan melalui mekanisme fagositosis.

Beberapa penelitian tentang aktivitas fagositosis pada beberapa jenis ikan antara lain, penelitian Johnny dan Roza (2004) menyatakan bahwa hasil percobaan penyuntikkan imunostimulan peptidoglikan pada ikan kerapu macan menunjukkan rata-rata aktivitas fagositosis tertinggi sebesar 11,70 %. Junaidi (2007) menyatakan bahwa hasil percobaan pemberian LPS (*Lipopolysaccharida*) dengan dosis yang berbeda terhadap aktivitas fagositosis ikan nila menunjukkan rata-rata nilai aktivitas fagositosis tertinggi yaitu 39,33 %. Selanjutnya Firmanto (2008) menyatakan bahwa hasil percobaan pemberian lidah buaya sebagai imunostimulan terhadap level hematokrit, leukokrit dan

aktivitas fagositosis sel darah ikan mas menunjukkan rata-rata nilai aktivitas fagositosis tertinggi yaitu 24,67 %. Jika dibandingkan dari beberapa penelitian diatas, maka aktivitas fagositosis pada ikan nila yang diinjeksi antigen *Streptococcus agalactiae* lebih tinggi dibandingkan aktivitas fagositosis yang diperoleh pada ikan kerapu macan maupun ikan mas yang diberikan imunostimulant.

Kelulushidupan (SR) setelah Uji Tantang

Setelah dilakukan pengambilan darah, maka dilakukan uji tantang untuk mengetahui efektifitas vaksin dalam melindungi ikan nila dari serangan bakteri *S.agalactiae*. Uji tantang dilakukan dengan memasukkan bakteri *S. agalactiae* sebanyak 10^8 sel/ml ke dalam media pemeliharaan ikan, selanjutnya selama seminggu setelahnya dilakukan pencatatan tentang jumlah ikan yang mati. Hasil SR setelah uji tantang dapat dilihat pada tabel 19. Efektivitas suatu vaksin dapat ditentukan antara lain berdasarkan sintasan hidup yang diperoleh dan titer antibodi.

Tabel 19. SR setelah uji tantang dengan bakteri

Perlakuan (μ l/ekor)	Metode Injeksi	Metode Oral
I1 (0)	0	
O1 (0)		0
I2 (50)	100	
O2 (5)		13,33
I3 (100)	83,33	
O3 (10)		40
I4 (150)	83,33	
O4 (15)		20
I5 (200)	72,22	
O5 (20)		46,67

Hasil pengamatan kelulushidupan ikan nila uji setelah dilakukan ujiantang adalah sebagai berikut : Untuk perlakuan metode injeksi perlakuan I2 (dosis 50 µl/ekor ikan) memberikan SR yang tertinggi sampai 100%. Ini berarti vaksin yang digunakan sangat efektif dalam memberikan perlindungan pada ikan terhadap serangan bakteri *S.agalactiae*. Pada perlakuan dengan metode oral, SR tertinggi adalah pada dosis 20µl/ekor ikan dengan nilai SR sebesar 46,67 %. Hal ini berarti bahwa vaksinasi dengan metode oral memberikan hasil tidak sebagus metode injeksi dalam memberikan proteksi pada ikan. Hal ini sesuai dengan pendapat Fandina dkk (2012) yang menyatakan bahwa kendala vaksinasi oral adalah rusaknya antigen pada sistem pencernaan yang disebabkan oleh pH rendah pada lambung.

Efektifitas vaksinasi dipengaruhi oleh beberapa faktor yang salah satunya adalah kualitas air. Kualitas air dapat mempengaruhi fisiologi ikan dalam hubungannya dengan pembentukan antibodi (Isnansetyo, 1996). Menurut Firdaus (2004) bahwa pada ikan, suhu lingkungan yang tinggi tetapi masih dalam batas toleransi umumnya akan mempercepat produksi antibodi dan meningkatkan reaksi antibodi yang dihasilkan. Hasil pengukuran kualitas air selama penelitian memperlihatkan bahwa kualitas air masih berada pada kisaran yang bagus dan memenuhi persyaratan dengan suhu berkisar antara 24,3-24,5°C, oksigen terlarut sebesar 8,4-8,5 ppm dan pH sebesar 7,2.

Vaksinasi yang merupakan tindakan memasukkan antigen ke dalam tubuh akan memacu terbentuknya ketahanan spesifik. Proses pembentukan respon ini dipengaruhi oleh faktor kualitas vaksin, ikan dan lingkungan media budidaya. Kualitas vaksin dipengaruhi oleh keasingan struktur molekuler vaksin, mudah dikenali oleh limfosit dan kekuatannya berikatan dengan antibodi. Faktor ikan meliputi antara lain, umur, jenis dan kondisi fisiologis. Salah satu faktor lingkungan budidaya yang sangat berpengaruh

terhadap vaksinasi adalah suhu. Suhu media budidaya harus optimal bagi proses pembentukan respon imunitas spesifik. Respon spesifik yang terbentuk yakni ini respon yang sangat bergantung kepada suhu (*temperature dependent*). Karena itu, suhu media budidaya harus diatur sedemikian rupa berkisar 20-25 C, agar respon spesifik dapat terbentuk optimum dalam waktu 1-2 minggu (Alifuddin, 2002).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan hal-hal sebagai berikut :

- Dosis vaksin yang memberikan titer antibodi dan kelulushidupan yang tertinggi adalah dosis 50 µl pada metode injeksi dengan SR 100%, sementara pada metode oral adalah dosis 200 µl/ekor dengan SR 46,67%.
- Pada metode injeksi level hematokrit dan aktifitas fagositosis tertinggi dicapai pada perlakuan dosis 200 µl, dengan nilai 30,77% dan 45%, sedangkan level leukokrit tertinggi pada dosis 100 µl dengan nilai 6,21%. Kelulushidupan terbaik diperoleh pada perlakuan dosis 20 µl dengan SR 46,67%
- Pada metode oral level hematokrit dan aktifitas fagositosis tertinggi didapat pada perlakuan dosis 10 µl dengan nilai 30,67% dan 46,33%, sedangkan level leukokrit tertinggi pada perlakuan dosis 0 µl, dengan nilai 11 %. Kelulushidupan tertinggi diperoleh pada perlakuan dosis 50 µl, dengan SR sebesar 100%

Saran

Dari hasil penelitian dapat disarankan sebagai berikut :

- Perlu penelitian lebih lanjut tentang kinetika titer antibodi dan parameter kekebalan non spesifik selama beberapa minggu setelah vaksinasi

- Metode pengukuran titer antibodi perlu menggunakan metode yang lebih valid yaitu dengan ELISA

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 2009. *Streptococcus agalactiae*. http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Microbial_Biorealm. online 3 Februari 2010.
- Baya AM, Lipiani B, Hetrick FM, Robertson BS, Lukacovic R, May E, Poukish C (1990). Association of *Streptococcus* sp. with fish mortalities in the Chesapeake Bay and its tributaries. *J. Fish Dis.* 13: 251-253.
- Evans JJ, Klesius PH, Glibert PM, Shoemaker CA, Al Sarawi MA, Landsberg J, Duremdez R, Al Marzouk A, Al Zenki S 2002. Characterisation of beta-haemolytic Group B *Streptococcus agalactiae* in cultured sea bream, *Sparus auratus* L and wild mullet, *Liza klunzingeri* (Day), in Kuwait. *Journal of Fish Diseases* 25. pp505-513
- Evans JJ, Shoemaker CA, Klesius PH 2003. *Effects of sub-lethal dissolved oxygen stress on blood glucose and susceptibility to Streptococcus agalactiae in Nile tilapia, Oreochromis niloticus*. *Journal of Aquatic Animal Health* 15. pp202-208
- Evans JJ, Wiedenmayer AA, Klesius PH, Shoemaker CA 2004a. *Survival of Streptococcus agalactiae from frozen fish following natural and experimental infections*. *Aquaculture* 233. pp15-21
- Evans J.J., Klesius P.H., Shoemaker, C.A. 2004b. *Efficacy of Streptococcus agalactiae (group B) vaccine in Tilapia (Oreochromis niloticus) by Intraperitoneal and Bath Immersion Administration*. *Vaccine* 22, 3769-3773.
- Evans, J.J., Klesius P.H., Shoemaker, C.A. 2006. *Streptococcus in Warm-water Fish. Aquaculture International*. Issue 7, 10-14.
- Filho, C.I., Muller, E.E., Giardano, L.G.P., Bracarense, A.P.F.R.L. 2009. *Histological Findings of Experimental Streptococcus agalactiae Infection in Nile Tilapias (Oreochromis niloticus)*. *Braz J Vet Pathol*, 2009, 2 (1), 12-15
- Hardi, E. 2011. *Kandidat Vaksin Potensial S.agalactiae untuk Pencegahan Penyakit Streptococcosis pada Ikan Nila*. Disertasi. Institut Pertanian Bogor.
- Hastuti, S.D. 2010. *Uji Daya Hambat Antibiotik Alami dari Lidah Buaya terhadap Bakteri Streptococcus agalactiae yang Diisolasi dari Ikan*. DPP-UMM
- Hastuti. 2012. *Produksi Vaksin untuk Pencegahan Penyakit Streptococcosis Pada Ikan dengan Metode Ekstraksi Antigen Bakteri Streptococcus agalactiae*. Laporan PBP, DPP-UMM.
- Jafar, Q.A., Sameer, A.Z., Salwa, A.M., Samee, A.A., Ahmed, A.M., Faisal, A.S. 2009. *Molecular investigation of Streptococcus agalactiae isolates from environmental samples and fish specimens during a massive fish kill in Kuwait Bay*. *African Journal of Microbiology Research*. Vol.3(1) pp. 022-026.
- Joyce J. Evans, 1 David J. Pasnik, 1,4 Phillip H. Klesius, 2 and Salam Al-Ablani 3 *Journal of Wildlife Diseases*, 42(3), 2006, pp. 561-569
- Klesius PH, Evans JJ, Shoemaker CA, Yeh H, Goodwin AE, Adams A, Thompson K 2006a. *Rapid detection and identification of Streptococcus iniae using a monoclonal antibody-based indirect fluorescent antibody technique*. *Aquaculture* 258. pp180-186
- Klesius PH, Evans JJ, Shoemaker CA, Pasnik DJ 2006b. *Vaccines to prevent Streptococcus iniae and S agalactiae disease in tilapia, Oreochromis niloticus*. *Proceedings of the International Symposium of Tilapia*

- Aquaculture ISTA7*. Veracruz, Mexico, September 2006. pp15-24
- Shoemaker CA, Evans JJ, Klesius PH 2000. *Density and dose: factors affecting the mortality of Streptococcus iniae-infected tilapia Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 188. pp229-235
- Shoemaker CA, Klesius PH, Evans JJ 2001. *Prevalence of Streptococcus iniae in tilapia, hybrid striped bass and channel catfish from fish farms in the United States*. *American Journal of Veterinary Research* 62. pp174-177
- Supriyadi, 2002. *Penyakit Bakterial pada Ikan*. Makalah disampaikan pada Pelatihan Dasar Pengelolaan Kesehatan Ikan dan Lingkungan 14 Oktober - 2 Nopember 2002 di Jakarta.
- Supriyadi, 2006. *Infeksi Bakteri Streptococcus iniae Pada Ikan Budidaya di Indonesia*. *Media Akuakultur* Vol.1 tahun 2006. Pusat Riset Perikanan Budidaya (PRPB).
- Utama, I.H., N.S. Rejeki, I.M.Sukada, dan Wibawan, I.W.T. 1997. *Isolat Streptococcus agalactiae Asal Sapi Penderita Mastitis Subklinis*. *Media Veteriner*, Volume 4 No 1.