

APLIKASI VAKSIN *Streptococcus agalactiae* UNTUK PENCEGAHAN PENYAKIT STREPTOCOCCOSIS PADA BUDIDAYA IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) [Application of *Streptococcus agalactiae* vaccine to prevent streptococcosis on tilapia culture, *Oreochromis niloticus*]

Taukhid, Angela Mariana Lusiastuti[✉] dan Tuti Sumiati

Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar, Jl. Sempur 1 Bogor

email: lusiastuti_61@yahoo.co.id

ABSTRACT

The research with the aim to know the effectivity (yield gap) of the application of *Streptococcus agalactiae* vaccine (pure whole cell) in prevention of streptococcosis on tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture has been carried out. The isolate of *S. agalactiae* – N14G was used as a master seed on vaccine production. Priming vaccination was administered by immersion method, and booster vaccination was taken place two months latter by oral method. Challenge test at the lethal dose (LD₅₀) against active bacteria was done at 14th days post booster vaccination, and observation was taken place for 14 days post artificial infection. The results of the research showed that the highest survival rate and relative percent survival (RPS) was found in group treated with Streptovac vaccine (*S. agalactiae* and *A. hydrophila* combination) (65.58% and 35.36%) followed by *S. agalactiae* vaccine (52.08% and 10.01%). The lowest survival rate was found in control group (46.75%). The result of confirmation effectivity of the vaccines by challenge test in the laboratory showed that the highest survival rate and relative percent survival (RPS) was found in *S. agalactiae* vaccine (50.00% dan 37.50%) followed by Streptovac vaccine (40.00% and 25.00%), and the lowest survival rate was found in control group (20.00%). Vaccination is better than the non vaccinated.

Key words: effectivity, vaccine, *S. agalactiae*, streptococcosis, tilapia

ABSTRAK

Riset dengan tujuan untuk mengetahui efektivitas (*yield-gap*) aplikasi vaksin *Streptococcus agalactiae* (*pure whole cell*) untuk pencegahan penyakit streptococcosis pada budidaya ikan nila (*Oreochromis niloticus*) telah dilakukan pada skala lapang. Isolat bakteri *S. agalactiae* N14G digunakan sebagai sumber antigen dalam pembuatan vaksin. Vaksinasi awal (*priming*) diberikan melalui perendaman, dan dua bulan kemudian dilakukan vaksinasi ulang (*booster*) melalui pakan. Pada hari ke-14 pasca vaksinasi ulang, dilakukan ujiantang pada dosis *lethal* (LD₅₀) terhadap bakteri aktif, dan diamati selama 14 hari pasca infeksi buatan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian vaksin *S. agalactiae* (*pure whole cell*), vaksin Streptovac (kombinasi *S. agalactiae* dan *A. hydrophila*) dan kontrol memberikan nilai sintasan dan RPS masing-masing sebesar 52,08% dan 10,01%; 65,58% dan 35,36%; dan 46,75% (sintasan). Hasil ujiantang terhadap bakteri *S. agalactiae* aktif diperoleh nilai sintasan dan RPS pada kelompok ikan yang diberi vaksin *S. agalactiae* sebesar 50,00% dan 37,50%; vaksin Streptovac sebesar 40,00% dan 25,00%; sedangkan nilai sintasan pada kelompok kontrol sebesar 20,00% sehingga pemberian vaksin lebih baik dibandingkan tidak divaksin.

Kata kunci: efektivitas, vaksin, *S. agalactiae*, streptococcosis, ikan nila

PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) secara resmi diintroduksi dari Taiwan ke Indonesia (Bogor) pada tahun 1969 untuk tujuan budidaya. Galur-galur ikan nila yang lebih unggul seperti nila Chitralada dan NIFI didatangkan pada tahun 1989 dari Thailand (Jangkaru *et al*, 1991 dalam Arifin, 2010). Pada 1994 & 1997 didatangkan lagi ikan nila galur *Genetic Improvement of Farmed Tilapia* (GIFT) dari Filipina (Arifin, 2010).

Selama ini, ikan nila dikenal sebagai jenis ikan budidaya yang cepat tumbuh, teknik budidayanya relatif mudah, serta relatif tahan terhadap penyakit. Dengan demikian, ikan nila diharapkan menjadi salah satu primadona budidaya air tawar

sebagai pemasok protein hewani bagi masyarakat Indonesia. Kecenderungan tersebut terlihat dari peningkatan produksi yang tinggi dalam empat tahun terakhir, yaitu dari 206.904 ton pada tahun 2007 menjadi 481.440 ton pada tahun 2011; atau mengalami peningkatan rata-rata sebesar 24,76% per tahun (Kelautan dan Perikanan Dalam Angka, 2011).

Sejalan dengan perkembangan budidaya ikan nila yang makin intensif dalam mendukung program industrialisasi perikanan budidaya, masalah penyakit telah menjadi salah satu kendala yang harus mendapat perhatian serius dalam pengembangan budidaya ikan nila di Indonesia. Streptococcosis atau *syndrome meningoencephalitis* (sindrom radang otak dan selaput otak) dan *panophthalmitis* (radang mata)

merupakan penyakit yang sering terjadi pada budidaya ikan nila yang berdampak pada tingkat kematian ikan berkisar antara 30 – 80% (Evans *et al.*, 2002). Taukhid dan Purwaningsih (2011) menyatakan bahwa kasus streptococcosis di beberapa sentra budidaya ikan nila umumnya disebabkan oleh infeksi bakteri *Streptococcus agalactiae* (85%) dan *S. iniae* (15%). Gejala umum seperti: lemah, warna tubuh gelap, hilang nafsu makan, hilang keseimbangan, *uni/bilateral exophthalmia* dengan kornea mata berwarna pucat, pendarahan pada bagian eksternal serta luka. Selanjutnya dikatakan bahwa secara laboratoris, infeksi *S. agalactiae* pada ikan nila bersifat akut, sedangkan infeksi *S. iniae* lebih bersifat kronis. Fakta tersebut mengindikasikan bahwa bakteri *S. agalactiae* lebih berpotensi sebagai penyebab streptococcosis yang lebih serius pada budidaya ikan nila.

Selama ini, pengendalian penyakit pada budidaya ikan lebih mengandalkan pada penggunaan bahan kimia/obat/antibiotik yang sejatinya memiliki dampak negatif; baik terhadap lingkungan perairan, ikan, maupun konsumen. Pemerintah Indonesia telah mengeluarkan regulasi terkait dengan isu-isu tersebut, salah satu diantaranya adalah Per. 04/Men/2012 tentang Obat Ikan.

Pencegahan merupakan langkah paling ideal untuk pengendalian penyakit pada budidaya ikan. Strategi pencegahan penyakit ikan yang sudah diyakini cukup efektif adalah melalui vaksinasi. Program vaksinasi pada perikanan budidaya mampu (1) menurunkan tingkat mortalitas akibat infeksi patogen potensial, (2) mengurangi penggunaan antibiotik, dan (3) meminimumkan munculnya resistensi patogen terhadap antibiotik.

Pengembangan vaksin in-aktif bakteri *S. agalactiae* untuk pencegahan penyakit streptococcosis pada ikan nila di Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar (BPPBAT) telah dimulai sejak tahun 2009. Saat ini telah diperoleh isolat kandidat, potensi vaksin, teknologi produksi, serta prototipe produk vaksin tersebut. Ketersediaan vaksin anti streptococcosis pada ikan nila diharapkan dapat menjadi terobosan dalam upaya pengendalian penyakit

yang lebih menjanjikan. Dalam rangka pemanfaatan jenis vaksin tersebut di masyarakat, beberapa informasi teknis yang terkait dengan standarisasi masih perlu dieksplorasi agar produk tersebut dapat diterima secara ilmiah, hukum dan memenuhi standar produk vaksin.

Secara umum, penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan materi pengendali penyakit ikan dalam bentuk vaksin yang imunogenik dan protektif, serta memenuhi standar *quality, safety, dan efficacy* (QSE). Lebih spesifik, riset ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas (*yield-gap*) aplikasi vaksin *S. agalactiae* untuk pencegahan penyakit streptococcosis pada budidaya ikan nila.

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini dilakukan di laboratorium, dan dilanjutkan dengan aplikasi lapang di perkolaman Instalasi Riset Plasma Nutfah, Cijeruk – Bogor. Prosedur pelaksanaan kegiatan secara garis besar adalah sebagai berikut:

Ikan dan wadah uji

Ikan uji yang digunakan adalah ikan nila galur BEST dengan bobot rata-rata ± 2 gram/ekor. Populasi ikan uji tersebut berasal dari populasi yang homogen (hasil pemijahan yang dilakukan secara terkontrol di Instalasi Litbang di Cijeruk) dan diasumsikan sebagai populasi yang *specific pathogen free* (SPF). Hal ini berdasarkan hasil diagnosa secara bakteriologis yang dilakukan secara acak terhadap populasi tersebut sebelum digunakan pada penelitian ini. Prosedur praktis untuk menentukan bahwa populasi hewan uji yang akan digunakan “diasumsikan” SPF adalah sebagai berikut:

1. Penelusuran rekam jejak (silsilah) dari populasi ikan uji: lokasi, rekam data penangkar, galur, ukuran, performa, sistem budidaya, dan pengelolaan lingkungan budidaya.
2. Sampling secara acak terhadap populasi ikan sebelum digunakan sebagai ikan uji, selanjutnya diidentifikasi secara bakteriologis untuk mengetahui keberadaan/infeksi bakteri target. Isolasi bakteri dilakukan secara individual terhadap or-

gan ginjal, otak dan mata; selanjutnya dikarakterisasi menggunakan API 20 STREP System serta metode Standar Nasional Indonesia (SNI 7545.3:2009) yang meliputi: pengujian pewarnaan gram, motilitas, oksidase, oksidatif-fermentatif, katalase, penumbuhan dalam *bile salt* 40%, penumbuhan dalam NaCl 6,5%, hemolisis darah, *aesculin hydrolysis* dan asam *D-mannitol*.

Pakan diberikan secara *ad libitum* sebanyak 3 kali/hari (pagi, siang dan sore) sebanyak 3-5% dari bobot biomasa ikan selama percobaan. Jenis pakan yang digunakan adalah pakan komersial (pellet apung) dengan kadar protein kasar sebesar $\pm 28\%$.

Wadah uji berupa kolam beton ukuran 5 x 8 meter (40 m²) yang disekat dengan jaring menjadi 3 bagian, sehingga setiap kotak uji berukuran $\approx 13,3$ m². Kepadatan ikan uji adalah sebanyak 10 ekor/m². Sumber air berasal dari air irigasi yang dialirkan secara terus-menerus ke kolam secara paralel dengan menggunakan pipa paralon Ø 2 inch, dan debit air yang masuk ke kolam berkisar antara 5 – 7 liter/menit.

Sediaan vaksin

Isolat bakteri (*master seed*) yang digunakan sebagai sumber pembuatan vaksin adalah bakteri *S. agalactiae*-N14G yang merupakan hasil *screening* pada riset tahun 2009 s/d 2011. Penentuan penggunaan isolat bakteri tersebut didasarkan pada karakteristik dari bakteri tersebut, antara lain: memiliki tingkat patogenitas tinggi, tidak berkapsul, tidak menghasilkan b-haemolisin, imunogenisitas tinggi, serta memiliki potensi reaksi silang dengan isolat heterolog.

Sebelum digunakan sebagai *working seed*, bakteri ditingkatkan patogenitasnya melalui prosedur Koch's Postulate terhadap populasi ikan nila SPF. Reisolasi dilakukan terhadap individu ikan uji yang menunjukkan gejala klinis, dan dikarakterisasi menggunakan API 20 STREP System serta metode Standar Nasional Indonesia (SNI 7545.3:2009). (Evans *et al.*, 2004^b)

Preparasi vaksin *S. agalactiae* dilakukan dalam media pada *Brain Heart Infusion Agar*

(BHIA) dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 28 °C selama 72 jam. Teknik pemanenan bakteri, inaktivasi serta penentuan konsentrasi sediaan vaksin dilakukan menurut metode yang dikembangkan oleh Taukhid dan Purwaningsih (2011). Jenis sediaan vaksin yang digunakan pada penelitian ini adalah sediaan vaksin sel utuh (*whole cell vaccine*).

Perlakuan

Perlakuan yang diterapkan adalah pemberian vaksin yang terdiri dari 3 (tiga) faktor utama yaitu.

- A : Pemberian vaksin *Streptococcus agalactiae* (*pure whole cell*)
- B : Pemberian vaksin StreptoVac (kombinasi *S. Agalactiae* & *A. hydrophila*)
- C : Kelompok ikan tanpa pemberian vaksin (kontrol)

Masing-masing perlakuan diulang 3 (tiga) kali. Kepadatan ikan uji pada masing-masing perlakuan adalah 10 ekor/m².

Vaksinasi ulang (*booster*) dilakukan 2 bulan kemudian dari saat vaksinasi awal dan diberikan melalui pakan pada dosis 2 ml/kg bobot ikan. selama 5 hari berturut-turut

Pengamatan

Pengamatan terhadap tingkah laku, gejala klinis dan mortalitas ikan uji dilakukan setiap hari selama 3 bulan di lapang dan 21 hari ujiantang (di laboratorium). Pada periode pemeliharaan di kolam dan/atau selama proses ujiantang, dilakukan pula pengambilan sampel selektif terhadap individu yang menunjukkan tingkah laku dan/atau gejala klinis spesifik, minimal sebanyak satu ekor dari masing-masing perlakuan untuk diagnosa/identifikasi patogen target.

Evaluasi keamanan vaksin (*vaccine safety*) didasarkan pada jumlah kematian pasca vaksinasi yang dihitung berdasarkan jumlah kematian yang terjadi secara akut selama 2 x 24 jam pada kelompok ikan yang divaksin dan dibandingkan dengan kelompok ikan kontrol.

Efektivitas vaksin

Efektivitas vaksin dievaluasi berdasarkan 2

(dua) pendekatan, yaitu (1) nilai titer antibodi yang diukur dengan teknik *direct agglutination test*, dan (2) level proteksi relatif yang diukur melalui nilai persen sintasan selama periode penelitian (Evans *et al* 2002). Apabila selama periode penelitian skala lapang tidak ada kasus streptococcosis secara alamiah, (karena kesulitan untuk memastikan efektivitas pemberian vaksin) maka dilakukan ujiantang dengan infeksi buatan..

Ujiantang melalui infeksi buatan terhadap patogen target pada dosis letal 50% (LD₅₀), nilai mortalitas kumulatif, sintasan serta *relative percentage survival* (RPS) selama proses pengujian dihitung dengan rumus. $RPS = (1 - \{\% \text{ mortalitas ikan yang divaksin} / \% \text{ mortalitas ikan kontrol}\}) \times 100$. Penentuan nilai LD₅₀ dari isolat bakteri yang digunakan pada pengujian ini didasarkan pada nilai LD₅₀ (Taukhdid dan Purwaningsih, 2011) dengan nilai matematis $Y = 15,4062 + 10,4127X$ atau setara dengan $2,1 \times 10^3$ cfu/mL.

Ujiantang dilakukan dalam akuarium ukuran 30x40x35 cm³ yang diisi air sebanyak 40 liter dengan kepadatan 10 ekor/wadah, Ikan uji diinfeksi secara buatan terhadap bakteri aktif melalui penyuntikan secara *intra peritoneal* (IP) pada dosis LD₅₀.

Pengukuran titer antibodi

Pengambilan darah ikan uji dilakukan dengan menggunakan spuit 1 mL pada bagian *vena caudalis*. Darah ikan ditampung dengan tabung mikro ukuran 0,5 mL, dan didiamkan pada suhu kamar hingga terjadi pemisahan antara keping darah dengan plasma darah. Untuk mendapatkan plasma darah yang relatif murni, dilakukan pemusingan selama 5 menit pada 5.000 rpm. Plasma darah selanjutnya disimpan pada suhu 4°C.

Pengukuran titer antibodi dilakukan menurut metoda yang dikembangkan oleh Roberson (1990), dengan mengaglutinasikan langsung menggunakan *microtitre plate*. Proses aglutinasi diamati dengan bantuan mikroskop *inverted* pada pembesaran 100 – 400 kali. Titer antibodi ikan uji diukur sesaat sebelum proses vaksinasi, dan selanjutnya diukur setiap minggu hingga akhir penelitian.

Analisis data

Data sintasan dianalisis sidik ragam (Anova) untuk mengetahui pengaruh perlakuan yang diterapkan; Sebelum itu, data terlebih dahulu diuji homogenitas, normalitas dan aditifitasnya. Analisis dilakukan menggunakan program *Statistical Analysis System* (SAS) dengan program *General Linear Model* (GLM), Jika hasil analisis diperoleh beda nyata ($P < 0,05$) atau sangat beda nyata ($P < 0,01$) maka dilanjutkan dengan uji Duncan untuk melihat perbedaan dari pengaruh masing-masing perlakuan.

HASIL

Hasil pemeriksaan secara bakteriologis terhadap sampel dari populasi ikan nila sebelum digunakan pada penelitian ini adalah tidak ditemukan adanya infeksi bakteri *Streptococcus* spp. pada seluruh sampel yang diisolasi. Berdasarkan hasil pemeriksaan awal tersebut, maka dapat diasumsikan bahwa populasi ikan nila yang digunakan pada penelitian ini adalah populasi *specific pathogen free* (SPF) terhadap *S. agalactiae*.

Penentuan jenis isolat bakteri *S. agalactiae* N14G sebagai *master seed* pada penelitian ini didasarkan pada karakteristik yang terkait dengan potensi imunogenisitas dari bakteri tersebut, yaitu tidak berkapsul dan non-b-haemolitik.

Pada dua minggu pertama pasca pemberian vaksin, kematian ikan uji terjadi pada seluruh kelompok perlakuan yang berpola kronik. Pengambilan sampel secara selektif dilakukan pada setiap petak penelitian terhadap individu yang menunjukkan gejala klinis mirip kasus streptococcosis. Sampel dianalisa secara parasitologis dan bakteriologis. Dari tiga puluh ekor ikan yang diperiksa, tidak ditemukan adanya infeksi parasit yang serius, kecuali infeksi ekto-parasit *Trichodina* sp. dan *Dactylogirus* sp. dengan prevalensi kurang dari 10%. Hasil isolasi dan identifikasi bakteri yang paling dominan pada seluruh kasus, ditemukan adanya infeksi bakteri gram positif *S. agalactiae* dan bakteri gram negatif *Aeromonas hydrophila*. Karakterisasi dari kedua jenis bakteri tersebut selengkapnya disajikan pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Hasil karakterisasi uji-biokimia isolat bakteri *Streptococcus agalactiae* yang paling dominan pada kasus kematian ikan uji selama dua minggu pertama pemeliharaan. (*Bio-chemical characteristics of the most dominated bacterial isolates during two weeks post vaccination.*)

No.	Uji (<i>tests</i>)	Karakter (<i>characters</i>)
1.	Bentuk (<i>shape</i>)	Coccus
2.	Gram	positif
3.	Motilitas (<i>motility</i>)	Non motil
4.	Oksidase	negatif
5.	O/F (<i>oksidatif/fermentatif</i>)	Fermentatif
6.	Katalase	negatif
7.	Garam empedu 40%/bile acid 40%	positif tumbuh setelah 48 jam
8.	Tumbuh pada NaCl 6,5% /growing on NaCl 6.5%	positif tumbuh setelah 24 jam
9.	Hidrolisis Aesculin	negatif pengamatan 48 jam
10.	Asam D-manitol/D-mannitol acid	negatif pengamatan 48 jam
11.	Haemolisis	negatif

Tabel 2. Hasil karakterisasi uji-biokimia isolat bakteri *Aeromonas hydrophila* yang mendominasi ke-2 pada kasus kematian ikan uji selama dua minggu pertama pemeliharaan. (*Bio-chemical characteristics of Aeromonas hydrophila, the second dominated bacterial isolates during two weeks post vaccination.*)

No.	Uji (<i>Tests</i>)	Karakter (<i>Characters</i>)
1.	Bentuk (<i>shape</i>)	Batang pendek
2.	Gram	negatif
3.	Motilitas (<i>motility</i>)	positif
4.	Oksidase	negatif
5.	O/F (<i>oksidatif/fermentatif</i>)	fermentatif
6.	Katalase/catalase	negatif
7.	Hidrolisis Esculin	positif
8.	Voges-Proskauer	positif
9.	Tumbuh pada 37 °C	positif
10.	Pigmen coklat diffus (<i>difussi brown pigment</i>)	negatif
11.	b-galactosidase	positif
12.	Arginine dihidrolase	positif
13.	Lysine decarboxylase	variatif
14.	Ornithine decarboxylase	negatif
15.	Simmons' citrate	variatif
16.	Produksi H ₂ S / H ₂ S production	positif
17.	Urease	negatif
18.	Indole	positif
19.	Hidrolisis Gelatin	positif
20.	Hidrolisis Aesculin	positif
21.	Tumbuh di KCN / growing on KCN	positif
22.	Asam dari/ acid from:	
	Arabinose	positif
	Glucose	positif
	Inositol	negatif
	Mannitol	positif
	Salicin	positif
	Sorbitol	variatif
	Sucrose	positif
23.	Hemolisis (TSA + 5% sheep erythrocyte)	positif

Rataan nilai persen sintasan dan bobot biomas dari masing-masing kelompok perlakuan pada akhir penelitian skala lapang yang berlangsung selama 3 bulan selengkapnya disajikan pada Tabel 3. Nilai sintasan tertinggi dicapai pada kelompok pemberian vaksin Streptovac yaitu sebesar 65,58%; selanjutnya diikuti oleh kelompok pemberian vaksin *S. agalactiae* (52,08%) dan terakhir adalah kelompok kontrol (46,75%).

Pemberian vaksin tidak hanya meningkatkan sintasan yang lebih baik, namun juga meningkatkan rata-rata bobot individu ikan yang berarti juga meningkatkan produksi secara signifikan.

Setelah 24 jam pasca pemberian infeksi buatan, terlihat adanya perubahan tingkah laku dan mulai muncul gejala klinis seperti lemah, warna gelap, hilang nafsu makan, disorientasi atau hilang keseimbangan. Pada hari ke-3 hingga hari ke-7 mulai terlihat adanya gejala umum sebagaimana yang dideskripsikan oleh Tauhid dan Purwaningsih

(2011) seperti: lemah, warna tubuh gelap, hilang nafsu makan, hilang keseimbangan, *uni/bilateral exophthalmia* dengan kornea mata berwarna pucat, pendarahan pada bagian eksternal serta luka. Pada organ internal terdapat gejala adanya *ascites*, pembengkakan limpa, ginjal, hati dan organ dalam lainnya. Hasil selengkapnya dari proses uji tantangan tersebut disajikan pada Tabel 4, Pemberian vaksin tetap memberikan proteksi yang lebih baik dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Pada Tabel tersebut menunjukkan bahwa nilai titer antibodi yang tinggi hingga pengenceran ke-64 terdeteksi pada kelompok perlakuan A (vaksin *S. agalactiae*).

Sesuai dengan batasan *biological safety* untuk produk vaksin bahwa keamanan vaksin dapat dinilai berdasarkan jumlah kematian yang terjadi secara akut selama 2 x 24 jam pada kelompok ikan yang divaksin dibandingkan dengan kelompok ikan control. Karena pada penelitian ini tidak ditemukan

Tabel 3. Nilai rata-rata sintasan (%) ikan uji pada akhir pemeliharaan di kolam yang berlangsung selama 3 bulan. (*Mean of survival rate (%) of fish at the end of the experiment for 3 months period.*)

Perlakuan/experiments	Sintasan/survival rate (%)	Biomass (kg)	RPS (%)
A. vaksin <i>Streptococcus agalactiae</i>	52,08 a,b	52,98/636	10,01
B. vaksin Streptovac	65,58 b	55,43/665	35,36
C. kontrol / control	46,75 a	39,92/561	

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama memberikan pengaruh yang tidak berbeda menurut uji Duncan pada taraf 5% (*Number followed by the same letters are significantly different following Duncan test at 5%*)

Tabel 4. Nilai rata-rata sintasan (%) ikan uji pada akhir proses uji tantangan terhadap *Streptococcus agalactiae* N14G yang diamati selama 14 hari. (*Mean of survival rate (%) of fish at the end of challenge test against Streptococcus agalactiae N14G for 14 days examination.*)

Perlakuan/experiments	Sintasan / survival rate (%)	RPS
A. vaksin <i>Streptococcus agalactiae</i>	50,00 a	37,50
B. vaksin Streptovac	40,00 b	25,00
C. kontrol / control	20,00 c	

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama memberikan pengaruh yang tidak berbeda menurut uji Duncan pada taraf 5% (*Number followed by the same letters are significantly different following Duncan test at 5%*)

Tabel 5. Nilai titer antibodi serum darah ikan uji sebelum dan setelah proses diuji tantang dengan bakteri *Streptococcus agalactiae* (Degree of antibody titers of fish serum were analysed before and after challenge test against *Streptococcus agalactiae*.)

Sampling (sampling)	Perlakuan (treatments)	Pengenceran ke- (dilution)						
		0	2	4	8	16	32	64
Sebelum (before)	A	+	+	+	+	+	+	±
	B	+	+	+	+	±	-	-
	C	+	±	-	-	-	-	-
Setelah (after)	A	±	+	+	+	+	+	±
	B	+	+	+	+	±	-	-
	C	+	+	±	-	-	-	-

Keterangan: A = vaksin *Streptococcus agalactiae* (*Streptococcus agalactiae* vaccine), B = vaksin Streptovac (*Streptovaccin*), and C = kontrol (*control, no vaccine*).

adanya kematian yang terjadi selama 2 x 24 jam pada seluruh kelompok perlakuan pasca pemberian vaksin; maka dapat disimpulkan bahwa sediaan vaksin *S. agalactiae* dan Streptovac yang digunakan pada penelitian ini termasuk kategori aman terhadap ikan nila.

PEMBAHASAN

Taukhid dan Purwaningsih (2010) mendapatkan bahwa bakteri *S. agalactiae* yang tidak berkapsul dan menghasilkan b-haemolitik secara umum memiliki tingkat patogenisitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang non-kapsul dan non-b-haemolitik; namun memiliki imunogenisitas yang rendah. Hipotesa dari fenomena tersebut diduga karena sistem imunitas tubuh ikan tidak segera mengenali fraksi-fraksi imunogenik dari tipe bakteri *S. agalactiae* yang berkapsul.

Selain indikator nilai rata-rata persen sintasan, efektivitas suatu jenis vaksin juga dapat dievaluasi berdasarkan nilai *relative percent survival* (RPS) yang merupakan nilai persen relatif kelangsungan hidup kelompok ikan yang divaksin dibandingkan dengan nilai parameter yang sama dari kelompok ikan kontrol. Nilai RPS yang dicapai oleh kedua pemberian vaksin adalah sebesar 10,01% (vaksin *Streptococcus agalactiae*) dan 35,36% (Vaksin Streptovac) (Tabel 3). Meskipun bobot individu ikan

uji dari masing-masing kelompok perlakuan sangat bervariasi, berkisar antara 20,30 – 130,00 gram/ekor, namun nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan dapat disarikan sebagai berikut: kelompok pemberian vaksin *S. agalactiae* (A) adalah 83,30 gram/ekor, vaksin Streptovac (B) adalah sebesar 83,35 gram/ekor, dan kontrol (C) sebesar 71,16 gram/ekor.

Nilai sintasan yang diperoleh pada kedua kelompok ikan yang divaksin selama proses uji tantang secara laboratoris memperlihatkan kondisi yang berbeda dengan nilai yang diperoleh pada akhir pemeliharaan di kolam/lapang (Tabel 3 & 4). Fenomena tersebut dapat difahami karena hal-hal berikut: (1). Kelompok perlakuan pemberian vaksin *S. agalactiae* (A) sudah tentu akan merespon antigen dan membentuk antibodi sesuai dengan jenis vaksin yang diterima, yaitu “monovalent” *S. agalactiae*; sedangkan pada kelompok perlakuan pemberian vaksin Streptovac (B) akan merespon antigen dan membentuk antibody sesuai dengan jenis vaksin yang diterima, yaitu “polyvalent/kombinasi” antara *S. agalactiae* dengan *Aeromonas hydrophila*. Hasil pemeriksaan laboratoris terhadap individu-individu ikan uji yang sakit selama periode pemeliharaan di kolam, ditemukan adanya infeksi 2 (dua) jenis bakteri yang mendominasi, yaitu *S. agalactiae* dan *A. hydrophila* (Tabel 1 dan 2). Fakta tersebut mengindi-

kasikan bahwa di kolam/lapang sedikitnya terdapat dua jenis patogen yang sangat berpotensi sebagai penyakit serius pada pembudidayaan ikan nila, yaitu bakteri *S. agalactiae* dan *A. hydrophila*.

Fenomena kedua yang ditunjukkan pada hasil akhir ujiantang secara laboratoris. Kelompok perlakuan pemberian vaksin *Streptococcus agalactiae* (A) dengan nilai sintasan sebesar 50,00% dan RPS sebesar 37,50% lebih besar dibandingkan dengan kelompok perlakuan pemberian vaksin Streptovac (B) yang hanya diperoleh nilai sintasan sebesar 40,00% dan RPS sebesar 25,00%. Hal itu pun dapat difahami, karena ujiantang hanya dilakukan terhadap satu jenis bakteri yang menjadi fokus pada penelitian ini, yaitu bakteri *S. agalactiae*.

Reisolasi bakteri dari sampel ikan uji yang sedang sekarat (*moribund fish*) dari masing-masing kelompok perlakuan selama periode ujiantang menunjukkan bahwa dari organ mata dan otak ditemukan bakteri *S. agalactiae* dengan prevalensi 100%; sedangkan dari organ ginjal dan hati diperoleh nilai prevalensi masing-masing sebesar 70% dan 60%. Berdasarkan hasil tersebut, maka dapat dipastikan bahwa kematian selama proses ujiantang yang terjadi pada ikan nila uji disebabkan oleh infeksi bakteri *S. agalactiae* yang diinfeksi secara buatan (Pasnik *et al* 2005)

Kematian ikan uji pada masing-masing kelompok perlakuan mulai terjadi pada hari ke-4 pasca pemberian infeksi buatan, dan rataan mortalitas tertinggi mulai terjadi pada hari ke-5 hingga hari ke-12, dan tidak ditemukan adanya kematian lagi hingga akhir periode ujiantang. Tingginya nilai rata-rata mortalitas kumulatif selama proses ujiantang yang berlangsung selama 14 hari mengindikasikan bahwa infeksi bakteri *S. agalactiae* pada ikan nila bersifat akut, dan hal ini sesuai dengan pernyataan Taukhid dan Purwaningsih (2010) bahwa secara laboratoris, infeksi *S. agalactiae* pada ikan nila bersifat akut; sedangkan infeksi *S. iniae* lebih bersifat kronis. Selanjutnya Taukhid dan Purwaningsih (2010) menyatakan bahwa *S. agalactiae* lebih berpotensi sebagai penyebab streptococcosis yang lebih serius pada

pembudidayaan ikan nila, dibandingkan dengan bakteri *S. iniae*. Pernyataan Taukhid dan Purwaningsih (2010) tersebut semakin jelas dengan hasil reisolasi terhadap ikan uji yang menunjukkan gejala klinis sangat nyata dengan nilai prevalensi yang mencapai 100%.

KESIMPULAN DAN SARAN

Aplikasi lapang vaksin Streptovac memberikan nilai sintasan dan *relative percent survival* (RPS) yaitu sebesar 65,58% dan 35,36%; lebih besar dari pada vaksin *Streptococcus agalactiae* dengan nilai 52,08% dan 10,01%; dan dari pada kelompok kontrol dengan nilai sintasan sebesar 46,75%. Hasil ujiantang terhadap patogen target juga memperoleh nilai sintasan dan RPS yang serupa. Nilai tersebut pada kelompok pemberian vaksin *S. agalactiae* sebesar 50,00% dan 37,50%; pemberian vaksin Streptovac sebesar 40,00% dan 25,00%; sedangkan nilai sintasan pada kelompok kontrol sebesar 20,00%.

Perlu kajian pengaruh penambahan unsur adjuvant dan/atau sejenisnya untuk melipat gandakan potensi vaksin. Perlu pengembangan teknik pengukuran titer antibodi spesifik yang memiliki tingkat sensitivitas dan spesifisitas tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kepada Edy Farid, Ahmad Wahyudi, Mikdarullah, Bambang Priadi, Deni Irawan, dan Erlin Chahyadi atas bantuannya selama pelaksanaan kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhlaghi M, Munday B and Whittington R. 1996. Comparison of passive and active immunization of fish against *streptococcosis* (enterococcosis). *Journal of Fish Diseases* 19, 251–258.
- Arifin OZ. 2010. Budidaya ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Makalah disampaikan pada kegiatan bimbingan teknis pembudidaya ikan nila di Kabupaten Temanggung. Temanggung, 28-29 Oktober 2010. Tidak di publikasikan.
- Eldar A, Shapiro O, Bejerano Y and Bercovier H. 1995. Vaccination with whole-cell vaccine and bacterial protein extracts protects tilapia against *Streptococcus difficile* meningoencephalitis. *Vaccine* 13, 867–870.
- Eldar A, Horovitz A and Bercovier H. 1997. Development and efficacy of a vaccine against *Streptococcus iniae* infection in farmed rainbow trout. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 56, 175–183.

- Ellis AE. 1998. Fish Vaccination. Academic Press Limited, London. 255
- Evans JJ, Klesius PH, Glibert PM, Shoemaker CA, Al Sarawi MA, Landsberg J, Duremdez R, Al Marzouk A and Al Zenki S. 2002. Characterization of beta-haemolytic Group B *Streptococcus agalactiae* in cultured seabream, *Sparus auratus* (L.) and wild mullet, *Liza klunzingeri* (Day), in Kuwait. *Journal of Fish Diseases* 25, 505–513.
- Evans JJ, Klesius PH and Shoemaker CA. 2004a. *Streptococcus agalactiae* Vaccine. Invention Report No. 0170.03. ARS Subject Invention Serial# 10/807,575. (Filed March) (18, 2004). Patent pending.
- Evans JJ, Klesius PH, Shoemaker CA and Fitzpatrick BT 2004b. *Streptococcus agalactiae* vaccination and infection stress in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of Applied Aquaculture* 16.
- Evans JJ, Shoemaker CA and Klesius PH 2004c. Efficacy of *Streptococcus agalactiae* (Group B) vaccine in tilapia (*Oreochromis niloticus*) by intraperitoneal and bath immersion administration. *Vaccine* 22, 3769–3773.
- Frerichs GN and SD Millar. 1993. *Manual for the Isolation and Identification of Fish Bacterial Pathogens*. Pisces Press. Stirling. 60 pp.
- Klesius PH, CA Shoemaker and JJ Evans. 2000. Efficacy of a killed *Streptococcus iniae* vaccine in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Bull Eur Ass Fish Pathol* 2000; 19(1): 38-41
- Pasnik DJ, JJ Evans VS Panangala, PH Klesius, RA Shelby and CA Shoemaker. 2005. Antigenicity of *Streptococcus agalactiae* extracellular products and vaccine efficacy. *Journal of Fish Diseases* 28 (4), 205-212.
- Plumb JA, Schachte JH, Gaines JL, Peltier W and Carroll B. 1975. *Streptococcus* sp. from marine fishes along the Alabama and Northwest Florida coast of the Gulf of Mexico. *Transactions of the American Fisheries Society* 103, 358–361.
- Roberson BS. 1990. *Bacterial Agglutination dalam Fish Immunology Technical Communication* No. 1 edited by Stolen, J.S., T.C. Fletcher, D.P. Anderson, B.S. Roberson and W.B. van Muiswinkel. SOS Publications. Fair Haven, N.J. 197p.
- Romalde JL, Silva R, Riaza A and Toranzo AE. 1996. Longlasting protection against turbot streptococcosis obtained with a toxoid-enriched bacterin. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 16, 169–171.
- Taukhid dan U Purwaningsih. 2010. Efikasi berbagai sediaan vaksin *Streptococcus agalactiae* untuk pencegahan penyakit streptococcosis pada ikan nila, *Oreochromis niloticus*. Laporan Teknis Riset Perikanan Budidaya Air Tawar. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar. (Tidak dipublikasikan).
- Taukhid dan U Purwaningsih. 2011. Penapisan isolat bakteri *Streptococcus* spp. sebagai kandidat antigen dalam pembuatan vaksin, serta efikasinya untuk pencegahan penyakit streptococcosis pada ikan nila, *Oreochromis niloticus*. *Jurnal Riset Akuakultur* Volume 6 Nomor 1, hal 103-118.