

**STUDI EFIKASI *BOOSTER* VAKSIN *Streptococcus* spp. UNTUK
PENCEGAHAN PENYAKIT STREPTOCOCCOSIS PADA IKAN NILA
Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1758)**

(Skripsi)

Oleh

Nurfadila Maulana Hikmah

1914111020



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG**

2023

ABSTRACT

THE STUDY OF EFFICACY *Streptococcus* spp. VACCINE BOOSTER FOR PREVENTION OF STREPTOCOCCOSIS IN TILAPIA *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)

BY

NURFADILA MAULANA HIKMAH

Vaccination is considered effective in the prevention of streptococcosis because can increase the antibodies of fish. But, the antibody value will decrease over time. Therefore, it is necessary to strengthen the vaccine by revaccinating (booster). The aims of this study were to evaluate the efficacy of the *Streptococcus* spp. vaccine and assessing the effectiveness of the *Streptococcus* spp vaccine booster for preventing streptococcosis infection in tilapia. The research was carried out at Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang from November 2022-January 2023. This study used a completely randomized design (CRD) method consisting of 4 treatments and 3 replications. The study was conducted by giving the vaccine to fish as much as 0,1 ml/fish and rearing for 2 weeks. Then, the group of fish with vaccines booster were given revaccinating with the same dose and reared again for 2 weeks. The challenge test was carried out for 14 days by infecting with 10^9 cfu/ml of *Streptococcus agalactiae*. Tilapia were given the booster vaccine showed a better immune response as seen by an increase the antibody titer value of up to 426,27, phagocytosis activity of $46,33 \pm 1,53\%$, normal hematocrit levels, and a higher survival rate than other treatments. Therefore, the vaccine booster treatment had an RPS value of 41,39% higher than the one-time vaccine. So, the vaccine booster treatment of *Streptococcus* spp. vaccine is more effective in preventing *Streptococcus agalactiae* infection because it can improve the tilapia's immune system better.

Keywords : Booster vaccine, streptococcosis, antibody titers, phagocytosis activity, hematocrit levels.

ABSTRAK

STUDI EFIKASI *BOOSTER* VAKSIN *Streptococcus* spp. UNTUK PENCEGAHAN PENYAKIT STREPTOCOCCOSIS PADA IKAN NILA *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)

OLEH
NURFADILA MAULANA HIKMAH

Vaksinasi terbukti efektif sebagai pencegahan streptococcosis karena meningkatkan antibodi dalam tubuh ikan, namun nilai antibodi akan menurun seiring berjalannya waktu. Karena itu, perlu dilakukan penguatan vaksin dengan melakukan vaksinasi ulang (*booster*). Penelitian bertujuan untuk mengevaluasi efikasi dari vaksin *Streptococcus* spp. dan mengkaji keefektifan pemberian *booster* vaksin *Streptococcus* spp. dalam pencegahan infeksi streptococcosis pada ikan nila. Penelitian dilaksanakan di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang pada November 2022-Januari 2023. Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) terdiri atas 4 perlakuan 3 ulangan. Penelitian dilakukan dengan memberikan vaksin pada ikan sebanyak 0,1 ml/ekor dan dipelihara selama 2 minggu. Kemudian, ikan perlakuan *booster* vaksin diberi vaksin kembali dengan dosis yang sama dan dipelihara kembali selama 2 minggu. Uji tantang dilakukan selama 14 hari dengan menginfeksi *Streptococcus agalactiae* sebanyak 10^9 cfu/ml. Ikan yang diberi *booster* vaksin menunjukkan adanya peningkatan respon imun yang lebih baik dilihat dari meningkatnya nilai titer antibodi hingga 426,27, aktivitas fagositosis sebesar $46,33 \pm 1,53\%$, kadar hematokrit normal dan tingkat kelulushidupan lebih tinggi dari perlakuan lainnya. Oleh karena itu, perlakuan *booster* vaksin memiliki nilai RPS 41,39% lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian vaksin satu kali. Oleh karena itu, pemberian *booster* vaksin *Streptococcus* spp. lebih efektif dalam mencegah infeksi *Streptococcus agalactiae* karena mampu meningkatkan kekebalan tubuh ikan dengan lebih baik.

Kata kunci : *Booster* vaksin, streptococcosis, titer antibodi, aktivitas fagositosis, hematokrit.

**STUDI EFIKASI *BOOSTER* VAKSIN *Streptococcus* spp. UNTUK
PENCEGAHAN PENYAKIT STREPTOCOCCOSIS PADA IKAN NILA
Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1758)**

**Oleh
NURFADILA MAULANA HIKMAH**

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERIKANAN**

Pada

**Jurusan Perikanan dan Kelautan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : **STUDI EFIKASI BOOSTER VAKSIN *Streptococcus* spp. UNTUK PENCEGAHAN PENYAKIT STREPTOCOCCOSIS PADA IKAN NILA *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)**

Nama Mahasiswa : **Nurfadila Maulana Hikmah**

NPM : **1914111020**

Program Studi : **Budidaya Perairan**

Jurusan : **Perikanan dan Kelautan**

Fakultas : **Pertanian**



1. **Komisi Pembimbing**

Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.

NIP 19830923 200604 2 001

Yan Eyan, S.Pi., M.Si.

NIP 19870525 201012 1 002

2. **Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan**

Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si.

NIP 19700815 199903 1 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., P.hD.



Sekretaris : Yan Evan, S.Pi., M.Si.



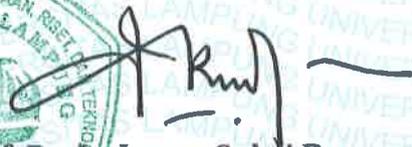
**Penguji
Bukan Pembimbing : Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



**Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP 19611020 198603 1 002**



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 18 April 2023

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Karya tulis/skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik sarjana baik di Universitas Lampung maupun perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan naskah, dengan naskah disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya tulis ini serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Bandar Lampung, Juni 2023

Yang membuat pernyataan,



Nurfadila Maulana Hikmah
NPM. 1914111020

RIWAYAT HIDUP



Penulis memiliki nama lengkap Nurfadila Maulana Hikmah.

Lahir pada tanggal 09 Februari 2001 di Bogor, Jawa Barat sebagai anak kedua dari pasangan Bapak Asep Maulana Ansori dan Ibu Ira Nurhalimah. Penulis menempuh pendidikan formal di TK Al-Munazhomah pada tahun 2006-2007, MI Al-Munazhomah pada tahun 2007-2013,

SMP Negeri 2 Ciawi pada tahun 2013-2016, dan SMA Negeri 1 Caringin pada tahun 2016-2019 dengan mengambil Jurusan Ilmu Pengetahuan Alam (IPA). Penulis kemudian melanjutkan pendidikan strata-1 pada Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2019. Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten dosen pada mata kuliah Kimia Dasar (2020), Biologi Organisme Akuatik (2021), Mikrobiologi Akuatik (2021), Hama dan Penyakit Ikan (2022), serta mata kuliah Fisiologi Reproduksi Ikan (2022). Penulis melakukan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari di Desa Karya Sari, Kecamatan Leuwiliang, Kabupaten Bogor tahun 2022. Penulis mengikuti kegiatan Magang Belajar Kampus Merdeka Belajar (MBKM) selama 6 bulan di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang, sekaligus melakukan penelitian untuk menyelesaikan tugas akhir. Penulis juga aktif di organisasi mahasiswa yaitu Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (Himapik) sebagai Sekretaris Bidang Pengabdian Masyarakat Periode Kepengurusan Tahun 2022.

PERSEMBAHAN

Puji dan syukur atas limpahan rahmat, hidayah dan kekuatan dari Allah, Tuhan semesta alam sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Skripsi ini saya persembahkan kepada:

Kedua orangtua saya yang saya cintai dan senantiasa memberikan doa serta dukungan tiada henti. Saya ucapkan terima kasih dan semoga selalu Allah limpahkan kesehatan dan keberkahan selalu untuk kedua orangtua saya.

Kepada sahabat dan teman-teman yang senantiasa kebersamai dalam tawa dan tangis yang terjadi selama ini.

&

Almamater tercinta
Universitas Lampung

MOTTO

“Sesungguhnya Allah tidak akan merubah keadaan suatu kaum kecuali kaum itu sendiri yang merubahnya”

(QS Ar-Ra’du:11)

“Berlelah-lelahlah, manisnya hidup terasa setelah lelah berjuang. Jangan menyerah. Menyerah berarti menunda masa senang di masa datang”

(Imam Syafi’i)

“Nak, berjalanlah sampai batas. Berlayarlah sampai pulau. Semangat, sabar dikit lagi selesai. Pasti akan menuai hal yang manis setelah sabar dan perjuangan panjang yang kamu lalui”

(Mamah)

“Latihlah diri kalian untuk bertopang pada diri sendiri dan Allah. *I’timad ala nafsi*. Segala hal dalam hidup ini tidak abadi. Semua akan pergi, silih berganti. Kesusahan akan pergi, kesenangan akan hilang. Akhirnya hanya tinggal urusan kalian sendiri dengan Allah”

(Ranah Tiga Warna)

SANWACANA

Segala puji bagi Allah atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini tepat pada waktunya dan tidak terkendala apapun. Sholawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW sebagai suri tauladan yang senantiasa dinantikan syafaatnya kelak. Skripsi ini berjudul "Studi Efikasi *Booster* Vaksin *Streptococcus* spp. untuk Pencegahan Penyakit Streptococcosis pada Ikan Nila *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)" sebagai salah satu persyaratan dan bentuk tanggung jawab penulis untuk meraih gelar Sarjana Perikanan (S.Pi). Penulis menyadari atas banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis berharap kepada semua pihak untuk memberikan kritik yang membangun untuk perbaikan dalam penulisan skripsi ini agar lebih baik lagi.

Penyusunan skripsi ini tak luput dari banyak sekali bantuan doa, bimbingan, serta pertolongan, baik materil maupun moril dari berbagai pihak selama pelaksanaannya. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini, yaitu:

1. Prof.Dr.Ir. Irwan Sukri Banuwa, M. Si. selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. Dr. Indra Gumay Yudha, S. Pi., M. Si. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
3. drh. Toha Tusihadi selaku Kepala Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang yang telah memberikan izin untuk terlaksananya kegiatan MBKM dan penelitian.

4. Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Pertama yang selalu memberikan dukungan, bimbingan, kritik, dan saran selama proses penyelesaian skripsi ini.
5. Yan Evan, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Kedua yang selalu memberikan arahan, saran, kritik selama masa penelitian berlangsung dan proses penyelesaian skripsi ini.
6. Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P. selaku Dosen Penguji yang senantiasa memberikan dukungan, kritik, dan saran sebagai perbaikan dalam penulisan skripsi ini.
7. Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang selalu memberikan motivasi, semangat, dan dukungan dalam perkuliahan.
8. Dosen-dosen Jurusan Perikanan dan Kelautan yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat serta pengalaman hidup kepada penulis selama menjadi mahasiswa.
9. Dinarti, S.Si., Suherman S.Si., M.Si., drh. Rismelsy, Yasinthya Inggariyanti, A.Md., Pak Tatang, dan Dhiva selaku tim Laboratorium Mikrobiologi dan sege-nap keluarga besar Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang yang telah memberikan ilmu dan bimbingannya.
10. Kedua orangtua yang selalu memberikan dukungan, kasih sayang, dan doa tiada terputus sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan di Universitas Lam-pung.
11. Teh Rida, Teh Rima, Dimas, Falah, dan Syahir yang senantiasa sabar sebagai kakak dan adik saya untuk terus mendukung saya menuju kesuksesan.
12. Sahabat SMA saya *Little Fams* (Niar, Nuher, Anis, Kurnia, Bella, Aisyah dan Baba) yang selalu menyemangati dan menghibur, serta untuk Kerapu 6 (Widuri, Erma, Diana dan Siska) yang senantiasa menemani masa-masa penelitian dan perkuliahan.
13. Seluruh rekan angkatan tahun 2019, baik teman kelas di Program Studi Budidaya Perairan dan di Jurusan Perikanan dan Kelautan yang selalu memberikan dukung-an dan saling membantu selama masa perkuliahan.

Semoga Allah senantiasa memberikan keberkahan dan perlindungan atas balasan kebaikan yang telah diberikan kepada penulis. Penulis menyadari skripsi ini masih terdapat kekurangan, namun semoga skripsi ini dapat berguna dan memberikan manfaat.

Bandar Lampung, Juni 2023

Nurfadila Maulana Hikmah

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan.....	4
1.3 Manfaat	4
1.4 Kerangka Pikiran.....	4
1.5 Hipotesis.....	7
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Biologi Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	8
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Nila.....	8
2.1.2 Habitat Ikan Nila.....	9
2.2 Bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i>	10
2.2.1 Klasifikasi dan Karakteristik <i>Streptococcus agalactiae</i>	10
2.3 Gejala Klinis Infeksi Streptococcosis.....	11
2.4 Respon Imun Tubuh Ikan.....	12
2.5 Proses Terbentuknya Antibodi	14
2.6 Vaksinasi Ikan	16
III. METODOLOGI PENELITIAN.....	18
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	18
3.2 Alat dan Bahan.....	18

3.3 Rancangan Penelitian.....	19
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	20
3.4.1 Tahap Persiapan.....	20
3.4.1.1 Persiapan Wadah Uji.....	21
3.4.1.2 Persiapan Ikan Uji.....	20
3.4.2 Tahap Pelaksanaan.....	21
3.4.2.1 Sediaan Vaksin dan Penyuntikan Vaksin.....	21
3.4.2.2 Penentuan <i>Lethal Dose</i> (LD ₅₀).....	22
3.4.2.3 Uji Tantang <i>Streptococcus agalactiae</i>	23
3.5 Tahap Pengamatan.....	23
3.5.1 Respon Imun Ikan terhadap Vaksin.....	23
3.5.1.1 Perhitungan Titer Antibodi.....	23
3.5.1.2 Aktivitas Fagositosis.....	24
3.5.2 Kadar Hematokrit.....	24
3.5.3 Tingkat Kelulushidupan (TKH).....	25
3.5.4 Tingkat Kelulushidupan Relatif (TKR).....	25
3.5.5 Gejala Klinis.....	26
3.5.6 Kualitas Air.....	26
3.6 Analisis Data.....	27
 IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	 28
4.1 Hasil.....	28
4.1.1 Respon Imun Ikan terhadap Vaksin.....	28
4.1.1.1 Perhitungan Titer Antibodi.....	28
4.1.1.2 Aktivitas Fagositosis.....	29
4.1.2 Kadar Hematokrit.....	30
4.1.3 Tingkat Kelulushidupan (TKH).....	31
4.1.4. Tingkat Kelulushidupan Relatif (TKR).....	32
4.1.5. Uji Tantang.....	33
4.1.5.1 Uji <i>Lethal Dose</i> (LD ₅₀).....	33

4.1.5.2 Gejala Klinis.....	33
4.1.6 Kualitas Air.....	35
4.2 Pembahasan	36
4.2.1 Respon Imun Ikan terhadap Vaksin	36
4.2.2 Kadar Hematokrit	39
4.2.3 Tingkat Kelulushidupan (TKH)	40
4.2.4 Tingkat Kelulushidupan Relatif (TKR).....	41
4.2.5 Gejala Klinis.....	42
4.2.6 Kualitas Air.....	43
V. PENUTUP	45
5.1 Simpulan.....	45
5.2 Saran	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	53

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat yang digunakan dalam penelitian	18
2. Bahan yang digunakan dalam penelitian.....	19
3. Rancangan penelitian pemberian vaksin <i>Streptococcus</i> spp. pada ikan nila	20
4. Pengamatan gejala klinis dan tingkah laku ikan selama ujiantang.....	34
5. Kisaran data kualitas air pemeliharaan ikan nila	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pemikiran penelitian	6
2. Morfologi ikan nila (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	8
3. Sistem imun alami dan sistem imun adaptif pada ikan.....	13
4. Pembentukan respon imun spesifik (adaptif).....	14
5. Letak penempatan perlakuan wadah ikan uji pada penelitian	20
6. Vaksin <i>Streptococcus</i> spp. yang digunakan.....	21
7. <i>Time line</i> penelitian.....	22
8. Rata-rata nilai titer antibodi ikan uji terhadap antigen Sa-Ia	28
9. Rata-rata peningkatan nilai titer antibodi ikan uji terhadap anti- gen Sa-Ib	29
10. Nilai aktivitas fagositosis pada ikan uji	30
11. Kadar hematokrit ikan uji pada setiap perlakuan.....	31
12. Tingkat kelulushidupan ikan nila yang diuji tantang bakteri <i>Strep- tococcus agalactiae</i>	32
13. Tingkat kelulushidupan relatif ikan nila yang diberi vaksin <i>Strep- tococcus</i> spp.	33
14. Gejala klinis ikan yang diinfeksi <i>Streptococcus agalactiae</i>	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Nilai titer antibodi ikan nila.....	54
2. Aktivitas fagositosis ikan nila	55
3. Gambar sel darah yang memfagosit dan tidak dalam proses aktifitas fagositosis	55
4. Kadar hematokrit ikan nila.....	56
5. Perhitungan nilai LD ₅₀ <i>Streptococcus agalactiae</i> ikan nila dengan metode <i>Reed and Muench</i>	56
6. Jumlah kematian ikan selama selama pengamatan uji tantang	57
7. Rekap data kematian ikan setelah uji tantang.....	57
8. Data gejala klinis yang muncul pada perlakuan selama masa uji tantang....	58
9. <i>Skoring</i> gejala klinis ikan nila selama masa pengamatan uji tantang.....	59
10. Uji statistik aktivitas fagositosis ikan nila	60
11. Uji statistik kadar hematokrit ikan nila.....	63
12. Uji statistik tingkat kelulushidupan atau <i>survival rate</i>	67
13. Hasil identifikasi bakteri dari ikan yang diuji tantang dengan menggunakan <i>Vitek 2 Compact</i>	68

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan nila merupakan komoditas perikanan tawar yang tergolong sangat diminati dan memiliki pasar yang luas. Produksi ikan nila di Indonesia terus meningkat dan menjadi salah satu komoditas ekspor andalan. Pada tahun 2018 dan 2019 produksi budi daya ikan nila di Indonesia mengalami peningkatan produksi mencapai rata-rata 1.253.262,5 ton (KKP, 2022). Produksi budi daya ikan nila yang terus meningkat sejalan dengan budi daya ikan yang semakin intensif, sehingga resiko munculnya penyakit pada budi daya lebih tinggi. Penyakit yang menyerang budi daya ikan dapat memperlambat pertumbuhan ikan sehingga pemeliharaan ikan lebih lama, tingginya penggunaan pakan, bahkan kematian. Akibatnya, dapat menurunkan jumlah produksi. Salah satu penyakit yang sering timbul menyerang ikan nila yaitu infeksi akibat bakteri *Streptococcus* sp. atau dikenal streptococcosis yang mampu secara signifikan mengakibatkan kematian (Evan *et al.*; 2002; Dana *et al.*, 2004; Pasnik *et al.*, 2005; Hardi *et al.*, 2013; Rusli dan Nurdin, 2021).

Bakteri *Streptococcus* sp. dianggap menjadi patogen primer spesifik di perairan tawar dan menjadi patogen oportunistik sekunder yang menyerang ikan air tawar, khususnya pada ikan nila, dan menyebabkan gangguan sistem kekebalan (Sherif *et al.*, 2020). Bahkan infeksi streptococcosis ini menjadi salah satu penyakit terparah pada ikan nila di seluruh dunia (Sherif dan Leila, 2022). Infeksi streptococcosis terjadi 85% diakibatkan oleh bakteri *Streptococcus agalactiae* dan sebesar 15% disebabkan oleh bakteri *Streptococcus iniae*. Streptococcosis sangat membahayakan bagi ikan nila, dilaporkan bahwa infeksi streptococcosis dalam waktu 3-7 hari mampu mengakibatkan kematian massal lebih dari 50% dan menyebabkan kematian yang persisten dalam beberapa minggu (Taukhid dan Purwaningsih, 2011). Evans *et al.* (2006) juga

melaporkan bahwa 90% ikan nila mengalami kematian setelah 6 hari diinjeksikan *Streptococcus agalactiae*.

Akibat serangan infeksi streptococcosis dilaporkan menyebabkan kematian pada ikan nila yang di budi dayakan di Danau Maninjau hingga 30% dari total populasi selama satu siklus pemeliharaan. Streptococcosis telah banyak menginfeksi ikan nila yang di budi dayakan dengan tingkat serangan cukup mengkhawatirkan dan terjadi hampir di setiap kelompok budidaya (Supriyadi dan Gardenia, 2010). Infeksi streptococcosis juga pernah menyebabkan kematian >50% ikan nila di Karawang, Jawa Barat (Gardenia *et al.*, 2011). Sugiani (2013) juga melaporkan terjadi infeksi streptococcosis pada budi daya ikan nila di Waduk Cirata dengan gejala khas, yaitu mata menonjol. Gejala khas dari infeksi streptococcosis, yaitu ikan nila mengalami peradangan otak atau dikenal dengan *meningoensefalitis*, unilateral/bilateral eksoptalmia, ikan berenang tidak menentu dan berputar serta tulang belakang ikan akan membentuk huruf C atau melengkung (Suhermanto *et al.*, 2019).

Tingginya tingkat kematian akibat infeksi streptococcosis memerlukan tindakan pengendalian yang efektif. Vaksinasi dianggap sebagai salah satu cara yang efektif dalam pengendalian infeksi tersebut karena vaksinasi mampu merangsang terbentuknya antibodi sehingga memberikan proteksi terhadap serangan penyakit tertentu (Ellis, 1988; Parelberg *et al.*, 2005; Sukenda *et al.*, 2015; Rahmi *et al.*, 2021). Pemberian vaksin dianggap berhasil ketika mampu merangsang terbentuknya antibodi pada ikan. Oleh karena itu, efikasi atau penilaian terhadap vaksin perlu dilakukan untuk mengevaluasi keefektivitasan dari vaksin. Efikasi vaksin dievaluasi berdasarkan kenaikan nilai titer antibodi serta nilai keefektivitasan vaksin atau *relative percent survival* (RPS). Nilai RPS menunjukkan tingkat perlindungan relatif ikan terhadap infeksi bakteri yang diinfeksi (Pane *et al.*, 2021). Penelitian vaksin dari bakteri *S. agalactiae* untuk pencegahan infeksi streptococcosis sudah banyak dilakukan, di antaranya penelitian yang dilakukan oleh Hardi *et al.* (2011) tentang pemberian vaksin *S. agalactiae* yang mampu meningkatkan respon imun spesifik dan

nonspesifik ikan nila. Vaksin gabungan antara vaksin sel utuh dan vaksin *extracellular products* (ECP) memberikan proteksi sebesar 79% pada infeksi dari *S. agalactiae*. Aplikasi vaksin *S. agalactiae* juga dapat menurunkan tingkat kematian ikan nila akibat streptococcosis hingga 20-30% dibandingkan dengan tanpa aplikasi vaksin (Taukhid *et al.*, 2015). Pengaplikasian vaksin polivalen *S. agalactiae* juga memberikan hasil peningkatan imunitas pada induk ikan nila. Efikasi vaksin yang diberikan kepada induk mampu menghasilkan nilai RPS benih diatas 50% sampai dengan umur 20 hari pasca penetasan (Nurani *et al.*, 2019).

Antibodi yang terbentuk dari pemberian vaksin memproteksi ikan dari serangan penyakit tertentu, namun tingkat antibodi ini dapat menurun seiring berjalannya waktu dan level proteksinya pun menurun (Sukenda *et al.*, 2015; Hidayatullah *et al.*, 2022). Vaksin yang diperoleh dari bakteri dilemahkan atau dimatikan dapat menjadi masalah jika proses inaktivasinya tidak sempurna. Hal ini dapat menyebabkan vaksin kadang gagal untuk merangsang respons imun. Oleh karena itu, dibutuhkan pemberian *booster* vaksin sehingga bakteri berpotensi dapat bermutasi dengan cara memulihkan virulensi patogen (Hardi *et al.*, 2020). Penelitian Fauzi (2020) menunjukkan bahwa ikan nila yang diberi perlakuan *booster* vaksin mengalami peningkatan level antibodi yang signifikan dalam jangka waktu yang lama, sedangkan perlakuan ikan kontrol memiliki nilai antibodi yang cenderung tetap. Menurut Taukhid *et al.* (2018) bahwa pemberian *booster* vaksin mampu menghasilkan nilai titer antibodi tertinggi dan memiliki nilai RPS >50%, aplikasi tunggal tanpa *booster* hanya mencapai nilai RPS antara 7,14-45,00%. Selanjutnya, menurut Hidayatullah *et al.* (2022) pemberian *booster* memberikan nilai antibodi (0,20 nm) dan aktivitas lisozim (291,11 U/ml) tertinggi dibandingkan dengan pengaplikasian vaksin satu kali yang memiliki nilai titer antibodi (0,13 nm) dan aktivitas lisozim (235,67 U/ml). Selain itu, diperkuat dengan pendapat Setyawan *et al.* (2012) bahwa pemberian *booster* vaksin inaktif *whole cell Aeromonas salmonicida* terhadap ikan mas menunjukkan rerata nilai titer antibodi sebesar 58,67 dan meningkat hingga 85,33 setelah diberi *booster*.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah mengevaluasi efikasi dari pemberian vaksin *Streptococcus* spp. pada ikan nila serta mengkaji efektivitas pemberian *booster* vaksin *Streptococcus* spp. sebagai pencegahan dari infeksi streptococcosis pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*).

1.3 Manfaat Penelitian

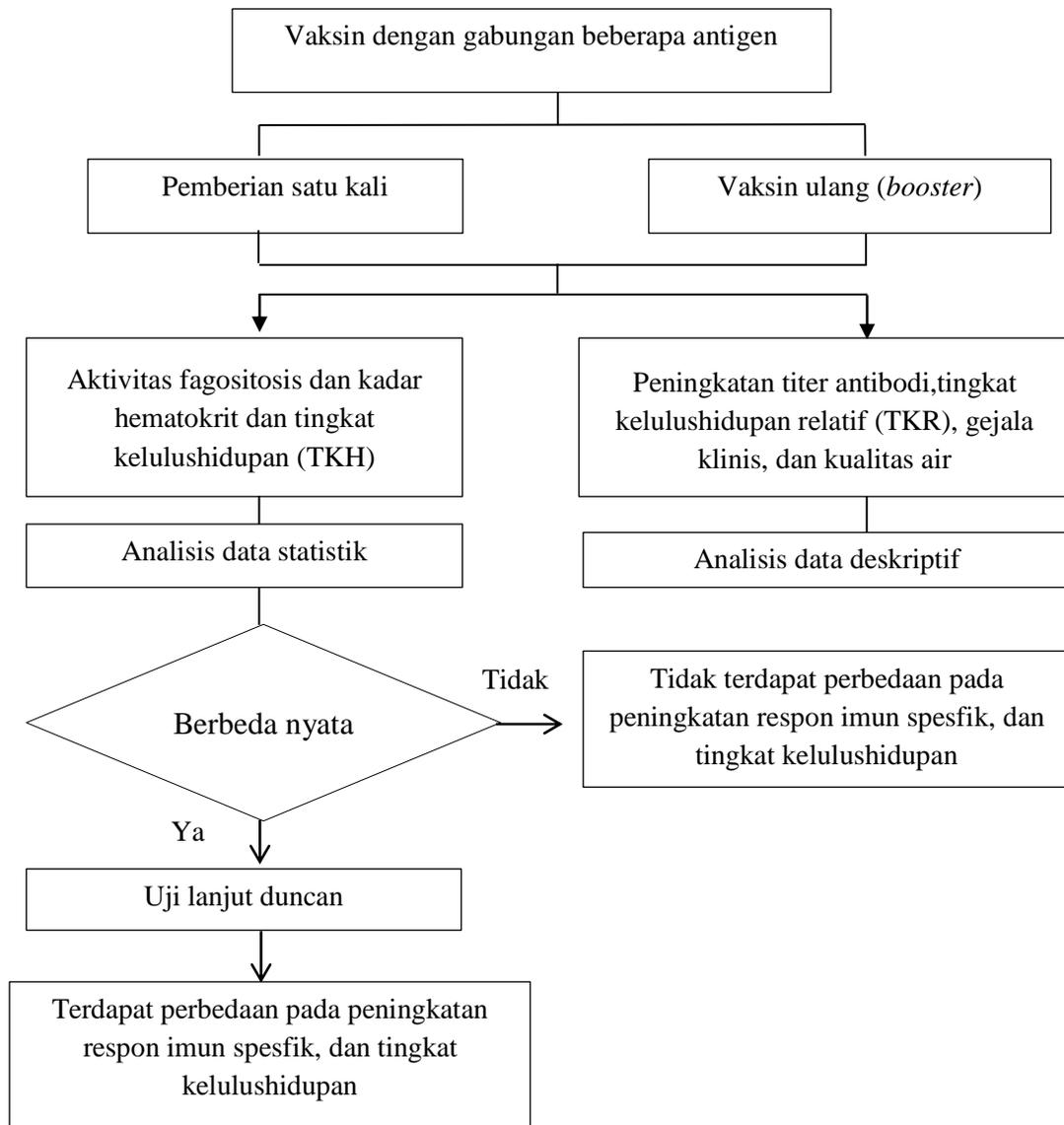
Manfaat dari penelitian ini yaitu diperoleh informasi mengenai keefektifan dari vaksin *Streptococcus* spp. yang diperoleh dari beberapa isolat *Streptococcus agalactiae* yang berbeda. Selain itu, diperolehnya informasi mengenai keefektifan pemberian penguatan vaksin (*booster*) untuk pengendalian infeksi streptococcosis pada budi daya ikan nila sehingga dapat digunakan dalam manajemen strategi pemberian vaksin.

1.4 Kerangka Pikir

Infeksi streptococcosis memberikan kerugian yang sangat besar bagi pembudi daya karena dapat mematikan ikan secara massal. Infeksi streptococcosis 85% disebabkan oleh bakteri *Streptococcus agalactiae*, dengan daerah penyerangan pada otak dan mata. Infeksi akibat *S. agalactiae* terhadap ikan nila menunjukkan tingkat kematian yang tinggi. Pengobatan infeksi ini biasanya menggunakan antibiotik, namun pemberian antibiotik dapat menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan dan memberikan efek resistensi pada bakteri. Oleh karena itu, pencegahan dengan vaksinasi dianggap tepat karena dengan vaksinasi menimbulkan peningkatan antibodi ikan terhadap infeksi penyakit tersebut.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *S. agalactiae* memiliki banyak isolat yang berbeda serotipnya. Isolat-isolat yang berbeda dari *S. agalactiae* memberikan tingkat patogenitas yang berbeda sehingga penggabungan isolat-isolat *S. agalactiae* yang

berbeda untuk menjadi vaksin diharapkan mampu mencegah timbulnya infeksi streptococcosis dengan efektif dan efisien. Selain itu, nilai antibodi pada ikan setelah vaksin dapat menurun seiring berjalannya waktu, menurunnya nilai antibodi akan menurunkan tingkat proteksi vaksin terhadap penyakit yang ditargetkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penguatan vaksin dengan melakukan vaksinasi ulang (*booster*). Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efikasi pemberian vaksin *Streptococcus* spp. dan mengkaji efektivitas dari pemberian *booster* vaksin *Streptococcus* spp. dalam pencegahan infeksi streptococcosis pada ikan nila dengan mengevaluasi adanya peningkatan imunitas berupa nilai titer antibodi, aktivitas fagositosis, kadar hematokrit dan tingkat kelulushidupan ikan. Dengan demikian, penelitian ini dapat menjadi sumber informasi mengenai pemilihan vaksin yang efektif dan manajemen strategi pemberian vaksin. Bagian kerangka pikir dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pemikiran penelitian

1.5 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini sebagai berikut:

a. Aktivitas Fagositosis

H_0 : semua $\tau_i = 0$: Semua pengaruh perlakuan pemberian vaksin *Streptococcus* spp. tidak berbeda nyata terhadap nilai aktivitas fagositosis pada ikan nila.

H_1 : minimal ada satu $\tau_i \neq 0$: Minimal terdapat satu pengaruh perlakuan pemberian vaksin *Streptococcus* spp. yang berbeda nyata terhadap aktivitas fagositosis pada ikan nila.

b. Kadar Hematokrit

H_0 : semua $\tau_i = 0$: Semua pengaruh perlakuan pemberian vaksin *Streptococcus* spp. tidak berbeda nyata terhadap kadar hematokrit pada ikan nila.

H_1 : minimal ada satu $\tau_i \neq 0$: Minimal terdapat satu pengaruh perlakuan pemberian vaksin *Streptococcus* spp. yang berbeda nyata terhadap kadar hematokrit pada ikan nila.

c. Tingkat Kelulushidupan (TKH)

H_0 : semua $\tau_i = 0$: Semua pengaruh perlakuan pemberian vaksin *Streptococcus* spp. tidak berbeda nyata terhadap tingkat kelulushidupan ikan nila.

H_1 : minimal ada satu $\tau_i \neq 0$: Minimal terdapat satu pengaruh perlakuan pemberian vaksin *Streptococcus* spp. yang berbeda nyata terhadap tingkat kelulushidupan ikan nila.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ikan Nila

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Nila

Ikan nila merupakan ikan air tawar yang sudah dikenal secara luas. Secara biologis klasifikasi ikan nila menurut Froese dan Pauly (2023) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Osteichthyes
Sub-kelas	: Acanthopterygii
Ordo	: Percomorphi
Sub-ordo	: Percoidea
Famili	: Cichlidae
Genus	: <i>Oreochromis</i>
Spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i>



Gambar 2. Morfologi ikan nila

Ciri-ciri morfologi ikan nila, yaitu memiliki bentuk yang panjang dan bulat pipih dengan sisik berukuran besar, memiliki mata yang bertepi putih, menonjol, dan besar. Ikan nila memiliki lima sirip, yaitu sirip punggung, sirip dada, sirip perut, sirip anal dan sirip ekor. Sirip punggungnya memanjang dari bagian atas tutup insang sampai bagian atas sirip ekor. Terdapat sepasang sirip dada dan sirip perut yang berukuran kecil, sirip anal hanya satu buah dan berbentuk agak panjang. Sementara itu sirip ekornya agak berbentuk bulat dan berjumlah satu buah (Syuhriatin, 2020). Ikan nila memiliki linear lateralis yang terputus menjadi dua bagian, letaknya memanjang di atas sirip dada. Ikan nila memiliki jumlah sisik pada garis rusuk berjumlah 34 buah, memiliki 17 jari-jari keras pada sirip punggung, 6 buah jari-jari lemah pada sirip perut, sirip dada terdapat 15 jari-jari lemah, sirip anal memiliki 3 jari-jari keras, dan 10 jari-jari lemah serta memiliki bentuk ekor yang berpinggiran tegak (Arifin, 2016).

2.1.2 Habitat Ikan Nila

Ikan nila tercatat berasal dari Afrika dan Timur Tengah bagian Barat Daya dan merupakan ikan kelompok subtropis hingga tropis. Ikan nila memiliki toleransi yang tinggi terhadap lingkungan hidupnya. Oleh karena itu, ikan nila memiliki habitat di air tawar, seperti sungai, danau, waduk, dan rawa-rawa. Toleransi tinggi terhadap lingkungan yang dimiliki ikan nila menjadikan ikan nila dapat dipelihara di dataran rendah yang berair payau. Ikan nila dikategorikan sebagai ikan *euryhaline* karena memiliki toleransi yang luas terhadap salinitas. Salinitas yang cocok untuk nila adalah 0-35 ppt. Pada salinitas 0-30 ppt ikan nila mampu tumbuh secara optimal, pada salinitas 31-35 ppt ikan nila dapat hidup namun dengan pertumbuhan yang lambat (Mujalifah *et al.*, 2018). Suhu optimum untuk pertumbuhan ikan nila kisaran 25-33°C. Perubahan suhu berpengaruh terhadap nafsu makan ikan. Suhu yang rendah dapat menyebabkan lambatnya proses pencernaan makanan, begitu sebaliknya suhu tinggi dapat mempercepat proses pencernaan makanan. Ikan nila tergolong ke dalam ikan omnivora atau pemakan segala. Pada habitatnya, ikan nila mampu me-makan lumut yang ada di

sekitarnya dan juga mampu memakan plankton. Oleh karena itu, ikan nila mudah dikembangkan (Aliyas *et al.*, 2016).

2.2 Bakteri *Streptococcus agalactiae*

2.2.1 Klasifikasi dan Karakteristik *Streptococcus agalactiae*

Berikut merupakan klasifikasi dari bakteri *Streptococcus agalactiae* menurut Lehman dan Neumann (2010), yaitu:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Family	: Streptococcaceae
Genus	: <i>Streptococcus</i>
Spesies	: <i>Streptococcus agalactiae</i>

Genus *Streptococcus* tergolong ke dalam bakteri Gram positif dengan bentuk bulat berpasangan atau berantai. *Streptococcus* tidak berspora dan katalase negatif. *Streptococcus* bersifat homofermentatif dan memiliki kebutuhan nutrisi yang kompleks serta menghasilkan fermentasi glukosa yaitu asam laktat sebagai produk utama (Hardie dan Whiley, 1997). Lima karakteristik dasar dari *Streptococcus agalactiae* yaitu, termasuk Gram positif, negatif pada uji eskulin dan hidrolisis D-mannitol, berkatalase negatif, dan positif hipurat (Hardi *et al.*, 2011). *S. agalactiae* yang ditemukan menyerang ikan terdapat 2 tipe, yaitu tipe β -hemolitik dan tipe non hemolitik. Bakteri tipe β -hemolitik tumbuh optimum di suhu 37°C dan dapat menghidrolisis gula lebih banyak. Pada tipe non hemolitik *S. agalactiae* relatif tumbuh lebih lambat pada suhu 37°C, menghidrolisis beberapa gula tertentu dan lebih ganas dibandingkan dengan tipe β -hemolitik (Sheehan *et al.*, 2009).

Morfologi koloni bakteri dari *S. agalactiae*, yaitu berukuran kecil, berwarna putih, transparan, dan tumbuh dalam waktu 48 jam. Pada media *brain heart infusion* agar (BHIA), koloni bakteri berukuran 1 mm, tidak berwarna setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. *S. agalactiae* memiliki sifat biokimia fakultatif anaerob, metabolisme fermentatif, tidak tumbuh pada 6,5% NaCl, dan tumbuh pada suhu optimum 37°C (Austin dan Austin 2007). Menurut Daenuri dan Sinaga (2011) morfologi bakteri isolat *S. agalactiae* ditumbuhkan pada media *brain heart infusion* agar (BHIA), memiliki morfologi koloni berbentuk bulat kecil, transparan dan tidak berwarna. Secara mikroskopis, sel bakteri berbentuk kokus, tersusun berpasangan atau rantai. Menurut Zastempowska *et al.* (2022) *S. agalactiae* juga tumbuh pada media agar darah dengan komposisi 5% darah domba. Isolat *S. agalactiae* yang tumbuh pada media tersebut membentuk tipe β -hemolisa dan bersifat katalase negatif. Pada media agar darah *S. agalactiae* berbentuk bulat, berwarna transparan, cembung dan membentuk daerah hemolisis yang hanya sedikit lebih besar dari koloninya (Rahayu, 2015).

2.3 Gejala Klinis Infeksi Streptococcosis

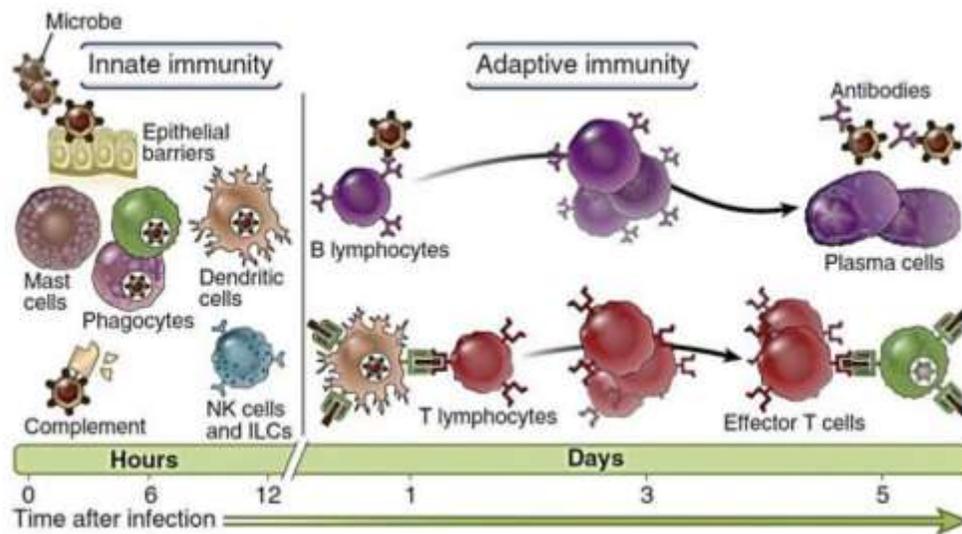
Berdasarkan pengamatan pada ikan nila yang diinjeksikan *S. agalactiae* memunculkan gejala klinis khusus, yaitu ikan berenang tidak menentu dan berputar-putar, berenang di dasar wadah pemeliharaan, ikan menjadi pasif dan bergerak lambat, respon ikan terhadap pakan menurun, dan terdapat geripis pada sirip. Ikan juga menunjukkan hemoragi di mata, eksoptalmia, dan kornea mata keruh. Ketika dilakukan pembedahan hati pada ikan tampak pucat dan mengalami pembengkakan (Daenuri dan Sinaga, 2011). Ikan yang terinfeksi streptococcosis juga menunjukkan gejala yang khas berupa perubahan warna tubuh, badan membentuk huruf C, mengalami kejadian *whirling* atau berenang berputar, ikan juga berenang tidak menentu (*erratic*), dan ciri utamanya terjadi kekeruhan pada mata dan bilateral/unilateral eksoptalmia atau mata menonjol (Suhermanto *et al.*, 2019).

Menurut Supriyanti (2015) perubahan makroskopis pada organ luar ikan nila yang diinjeksikan *S. agalactiae* menunjukkan gejala yang khas, yaitu berenang berputar, perilaku berenang abnormal ini ditemukan pada semua isolat *S. agalactiae* yang diujikan. Ikan yang mengalami streptococcosis diawali dengan gejala klinis berupa perubahan pola berenang ikan yang tidak beraturan, diam di dasar atau sudut akuarium, dan diikuti dengan berenang tegak (*gasping*) dan berputar. Ikan menunjukkan gejala perubahan bentuk tubuh seperti huruf C pada pasca injeksi hari ke-14. Gejala klinis lain yang tampak pada ikan nila dengan infeksi streptococcosis terjadi perubahan warna (*melanosis*) pada permukaan tubuh, salah satunya ikan menjadi menghitam ataupun pucat, tubuh ikan melengkung berbentuk huruf C, mata mengalami kekeruhan (*opacity*), menonjol (*eksoptalmia*), dan memutih (*purulens*).

2.4 Respon Imun Tubuh Ikan

Mekanisme pertahanan diri terhadap patogen atau partikel asing merupakan sistem imunitas. Semua makhluk hidup memiliki sistem imunitas atau kekebalan terhadap setiap infeksi mikroorganisme. Tidak terkecuali pada ikan, sistem imun ikan akan melakukan mekanisme pertahanan diri jika terdapat infeksi mikroorganisme baik bakteri, virus, parasit ke dalam tubuh ikan (Maryani *et al.*, 2021). Sistem imun memiliki tiga fungsi utama, pertama sistem pertahanan yang berperan sebagai sistem pertahanan bagi antigen yang berasal dari luar tubuh. Kedua, berfungsi sebagai homeostatis dalam upaya mencapai keseimbangan tubuh sehingga terjadi anabolisme dan katabolisme. Ketiga, fungsi *supervisor*, sistem imun sebagai monitor untuk mengenali perubahan sel yang mengalami perubahan atau mutasi yang dapat terjadi secara spontan ataupun karena bahan kimia tertentu. Sistem imun terbagi menjadi dua, sistem imun alami (nonspesifik) dan respon imun adaptif (spesifik). Respon imun nonspesifik sudah ada alami dalam tubuh, imunitas bawaan ini akan teraktivasi ketika suatu sistem kekebalan mengalami sifat kimiawi dari antigen. Adapun sistem imun spesifik, sistem imun yang tidak muncul dari lahir namun berkembang secara berkala dengan seberapa besar antigen yang masuk ke dalam tubuh. Respon kekebalan tubuh

adaptif atau khusus ini menyesuaikan segala bentuk serangan antigen tertentu karena sistem imun ini akan mengingat bentuk infeksi atau serangan antigen yang telah terjadi (Yanuhar dan Caesar, 2022).

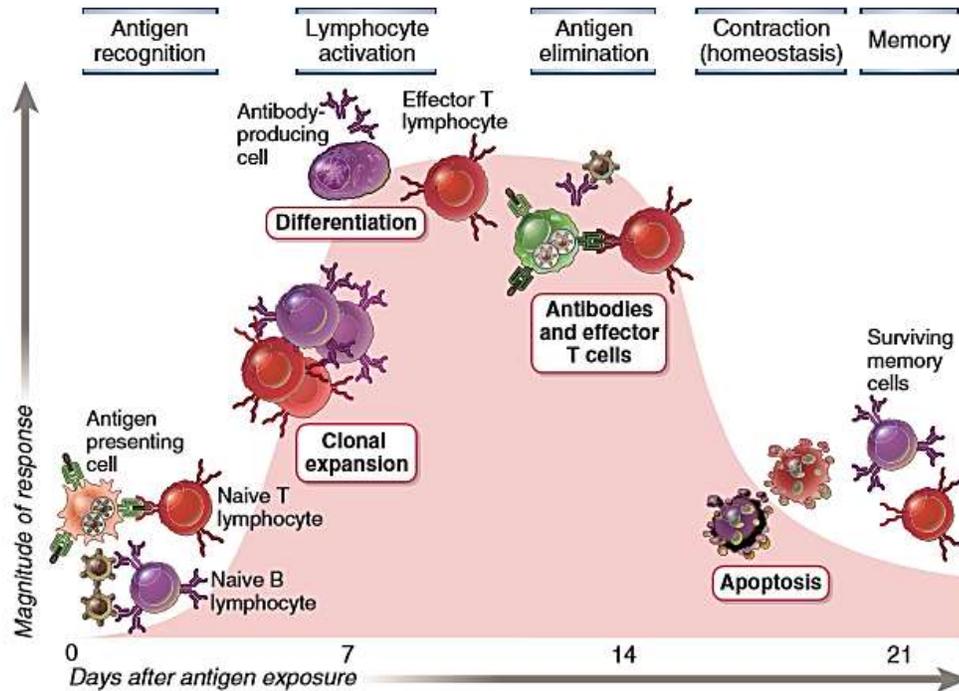


Gambar 3. Sistem imun alami dan sistem imun adaptif
Sumber: Abbas *et al.* (2018)

Mekanisme sistem imun nonspesifik menjadi pertahanan awal dalam menghadapi infeksi. Adapun respon imun spesifik memerlukan aktivasi limfosit untuk dapat terbentuk. Respon imun spesifik dan nonspesifik terbentuk dalam waktu yang bervariasi bergantung pada infeksi yang berbeda (Gambar 3). Respon imun nonspesifik sangat berperan dalam melawan mikroba beberapa jam atau hari pertama setelah infeksi sebelum respon imun spesifik berkembang. Respon imun spesifik berkembang sebagai respon terhadap infeksi dan beradaptasi dengan infeksi tersebut (Abbas *et al.*, 2018). Sistem imun nonspesifik pada ikan, yaitu fisik (kulit, sisik, lendir), humoral (lisozim, asam lambung, laktoferin, komplemen, interferon) serta selular (sel fagosit dan sel NK). Pada sistem imun spesifik membutuhkan waktu untuk mengenali patogen atau antigen sebelum munculnya respon. Respon yang timbul akan menginduksi munculnya memori spesifik antigen. Sistem imun ini terjadi dari adanya interaksi antara fagosit dan limfosit. Munculnya respon spesifik berawal dari kerja sel fagositik

kemudian akan dikenalkan pada sel imun spesifik, yaitu sel T dan sel B (Yanuhar dan Caesar, 202).

2.5 Proses Terbentuknya Antibodi



Gambar 4. Pembentukan respon imun spesifik (adaptif)
Sumber: Abbas *et al.* (2018)

Respon imun spesifik terdiri dari 3 langkah yang berbeda (Gambar 4), yaitu pengenalan antigen, aktivasi limfosit, dan eliminasi antigen (fase efektor). Setiap fase dapat memiliki durasi yang bervariasi yang berbeda. Sumbu Y pada Gambar 4 menunjukkan besarnya respon yang terjadi. Respon imun adaptif dimulai dengan penangkapan antigen, diikuti dengan aktivasi limfosit spesifik (Abbas *et al.*, 2018). Mekanisme terbentuknya sistem imun spesifik pada tubuh terjadi karena adanya antigen. Sistem kekebalan tubuh spesifik terdiri dari limfosit T (sel T) dan limfosit B (sel B). Antigen yang masuk pada tubuh pertama kali direspon oleh sistem imun bawaan, yaitu makrofag (limfosit), monosit, dan neutrofil. Sel-sel tersebut bekerja

dengan cara memfagosit antigen yang masuk dalam tubuh. Antigen yang telah difagosit kemudian difragmentasi oleh sel tersebut. Fragmen-fragmen antigen tersebut kemudian ditampilkan pada permukaan sel fagosit yang juga disebut *antigen presenting cell* (APC). Penampilan fragmen antigen oleh APC dilakukan melalui molekul *major histocompatibility complex class II* (MHC II). Fragmen antigen yang ditampilkan oleh MHC II masih memiliki molekul epitop. Molekul epitop ini merupakan tanda pengenal yang dikenali oleh molekul paratop yang dimiliki oleh sistem imun spesifik. Fragmen yang ditampilkan MHC II berinteraksi dengan sel *T helper* melalui molekul sel T reseptor. Sel *T helper* kemudian melakukan proliferasi, maturasi, dan diferensiasi menjadi sel *T cytotoxic*, sel *T memory*, dan sel *T helper*. Selain itu sel *T helper* juga memberikan informasi mengenai antigen kepada sel B sehingga sel B juga berproliferasi menjadi sel plasma dan sel memori. Sel plasma tersebut yang kemudian memproduksi imunoglobulin (antibodi) pada tubuh ikan nila (Lucas *et al.*, 2019).

Antigen presenting cells (APC) merepresentasikan epitop (determinan antigen) kepada sel *T helper* melalui molekul MHC II. Sel T akan menerima epitop-epitop tersebut menggunakan reseptor yang disebut TCR (*T-Cell receptor*). Setelah menerima kiriman epitop dari APCs, sel *T helper* kemudian meresponnya dengan mensekresi sitokin, dan diterima dengan mengadakan proliferasi menjadi sel B memori dan sel B plasma. Sel B memori akan mengingat epitop yang pernah diterima dengan membentuk reseptor khusus yang secara spesifik mengenali epitop tersebut sehingga ketika epitop yang sama masuk ke dalam tubuh, dengan cepat akan dikenali oleh sel B dan akan direspon dengan segera. Aktivasi sel T oleh antigen spesifik menghasilkan sel T memori yang dapat memberikan respon sekunder terhadap antigen yang sama. Sel T memori merupakan sel yang dapat hidup lama dalam keadaan istirahat dan dapat diaktifkan monosit atau makrofag (Ode, 2013).

2.6 Vaksinasi Ikan

Vaksinasi dibuat dengan menggunakan patogen yang dilemahkan atau dimatikan menggunakan bahan kimia atau pemanasan (Agustin *et al.*, 2016). Vaksinasi dianggap efektif karena menumbuhkan kekebalan tubuh pada ikan. Vaksinasi akan merangsang terbentuknya antibodi yang dapat memproteksi terhadap serangan penyakit tertentu. Vaksinasi meningkatkan tingkat proteksi ikan terhadap penyakit tertentu karena adanya peningkatan daya tahan tubuh ikan (Sukenda *et al.*, 2015). Prinsip vaksinasi adalah mengaktifkan sistem imun spesifik pada tubuh. Vaksinasi dapat dikatakan berhasil jika mampu merangsang tubuh dalam memproduksi antibodi. Selain meningkatkan jumlah antibodi, vaksinasi meningkatkan aktivitas fagositosis pada tubuh ikan sebagai sistem kekebalan nonspesifik (Amrullah *et al.*, 2014).

Terdapat beberapa cara dalam pengaplikasian vaksin, yaitu melalui perendaman, melalui pakan, dan injeksi vaksin atau melalui suntikan. Ketiga metode pengaplikasian vaksin tersebut memiliki kekurangan dan kelebihan. Metode vaksin tersebut diaplikasikan sesuai dengan kondisi ikan. Pada ikan yang berukuran kecil atau benih, vaksinasi efektif dilakukan dengan metode perendaman atau oral (Rusli dan Nurdin, 2021). Pengaplikasian vaksin dengan cara injeksi dilakukan dengan sediaan vaksin berbentuk cair. Kelemahan dari vaksin cair adalah mudah rusak selama proses penyimpanan ataupun transportasi. Vaksin cair tidak dapat mempertahankan stabilitas struktur untuk jangka waktu yang lama karena sensitif terhadap panas. Oleh karena itu, terdapat pula sediaan vaksin berbentuk kering beku dalam menanggulangi proses mobilitas serta diharapkan mampu mempertahankan kualitas dalam jangka waktu lama (Kumru *et al.*, 2014).

Keberhasilan suatu vaksinasi dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain kualitas strain bakteri sebagai kandidat vaksin, metode pembuatan vaksin, jenis antigen yang digunakan, dosis vaksin, cara vaksinasi, dan pemberian *booster*. Pemberian *booster* memberikan keuntungan memicu peningkatan antibodi dengan maksimal. Peningkatan titer antibodi terjadi karena ikan uji telah mempunyai memori imunitas sehingga

dengan *booster* atau vaksinasi ulang dapat menghasilkan respons imun yang lebih tinggi. *Booster* vaksin menjadi pemaparan kedua pada ikan dengan antigen yang sama, maka produksi antibodi akan lebih cepat dihasilkan dengan jumlah yang lebih besar dan dalam konsentrasi yang lebih tinggi dalam darah daripada vaksinasi pertama (Mulia *et al.*, 2016). Pemberian vaksin satu kali terutama vaksin dengan bakteri yang dimatikan memberikan respon imunitas pada ikan yang lebih lemah dan jangka waktu yang pendek. Oleh karena itu, diperlukan penggunaan pemberian vaksin *booster* (vaksin ulang) untuk dapat menginduksi kekebalan ikan secara maksimal (Agung, 2023).

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Kegiatan penelitian dilaksanakan pada tanggal 18 November 2022-15 Januari 2023. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium *Bioassay* (Laboratorium Uji Lapang) dan Laboratorium Mikrobiologi, Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang.

3.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1, bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Alat yang digunakan dalam penelitian

Nama Alat	Fungsi
Kontainer 150 liter	Wadah pemeliharaan ikan uji.
Aerator	Menyediakan oksigen terlarut untuk ikan.
<i>Skop net</i>	Mengambil dan memindahkan ikan.
Autoklaf 50 liter LS-50HD LCD GEA	Mensterilkan alat dan bahan yang akan digunakan.
Inkubator 53 liter In-55 Memmert	Menginkubasi media pertumbuhan bakteri.
<i>Hot Plate</i> SH-2	Memanaskan media pertumbuhan bakteri.
Timbangan digital Solechan MT	Menimbang media yang dibutuhkan.
Gelas ukur	Mengukur volume akuades.
Alat suntik (<i>sputit</i>)	Mengambil darah ikan saat sampling.
Mikropipet dan tip	Memindahkan larutan dalam volume kurang dari 1 ml.
Jarum ose	Menginokulasikan bakteri ke media.

Tabel 1. Alat yang digunakan dalam penelitian (lanjutan)

Nama Alat	Fungsi
<i>Microplate</i>	Alat dalam uji titer antibodi.
Kaca preparat	Membuat preparat ulas darah dalam pengamatan aktivitas fagositosis.
Sentrifugasi hematokrit 210 Hettich	Mengsentrifus tabung mikrohematokrit.
Mikrotube	Wadah penampung sampel darah ikan.
Tabung <i>corning</i>	Wadah suspensi bakteri dalam ujiantang.

Tabel 2. Bahan yang digunakan dalam penelitian

Nama Bahan	Fungsi
Ikan nila ukuran 20-25 gram	Ikan uji dalam penelitian.
Sediaan vaksin	Vaksin <i>Streptococcus</i> spp. yang disuntikan ke ikan.
Suspensi bakteri antigen vaksin	Antigen bakteri yang digunakan dalam uji titer antibodi.
Bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i>	Sediaan bakteri yang digunakan dalam uji LD ₅₀ dan ujiantang.
Pakan ikan	Makanan yang diberikan untuk ikan selama masa penelitian.
Media <i>blood</i> agar	Media diferensial untuk pertumbuhan bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i> .
Media <i>tryptic soy</i> agar	Media umum untuk pertumbuhan bakteri yang akan digunakan.
Larutan <i>phosphate buffer saline solution</i> (PBS)	Larutan garam yang digunakan untuk perlakuan kontrol dan uji titer antibodi.
Larutan KOH 38%	Larutan untuk uji Gram bakteri.
Larutan fisiologis	Larutan pengencer dalam pembuatan suspensi bakteri.
Pewarna giemsa	Pewarna yang digunakan dalam pengamatan aktivitas fagositosis.

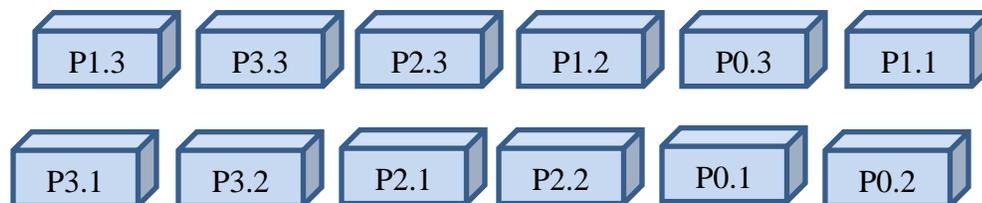
3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan tiga ulangan. Rancangan penelitian yang digunakan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rancangan penelitian pemberian vaksin *Streptococcus* spp. pada ikan nila

Perlakuan	Vaksinasi I	Vaksinasi II (<i>Booster</i>)	Uji Tantang
Kontrol negatif (P0)	Tanpa injeksi PBS atau Vaksin	PBS 0,1 ml/ekor	PBS 0,1 ml/ekor
Kontrol positif (P1)	PBS 0,1 ml/ekor	PBS 0,1 ml/ekor	<i>S. agalactiae</i>
Vaksin 0,1 ml/ekor (P2)	Vaksin 0,1 ml/ekor	PBS 0,1 ml/ekor	<i>S. agalactiae</i>
<i>Booster</i> vaksin 0,1 ml/ekor (P3)	Vaksin 0,1 ml/ekor	Vaksin 0,1 ml/ekor	<i>S. agalactiae</i>

Berikut merupakan gambar penempatan perlakuan, sebagai berikut:



Gambar 5. Letak penempatan perlakuan wadah ikan uji pada penelitian

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Tahap Persiapan

3.4.1.1 Persiapan Wadah Uji

Wadah yang digunakan, yaitu kontainer plastik berukuran 150 liter dengan dimensi 82x59x45 cm³. Kontainer terlebih dahulu dibersihkan dengan dicuci menggunakan sabun, kemudian dibilas hingga bersih dan tidak berbau. Kontainer dikeringkan, kemudian diisi dengan air setinggi 30 cm dan dipasang aerasi. Air untuk pemeliharaan didiamkan selama 3 hari dan dilakukan pengecekan kualitas air pH, DO, suhu, dan nitrit sebelum dilakukan pemeliharaan ikan uji.

3.4.1.2 Persiapan Ikan Uji

Ikan nila yang digunakan berukuran 20-25 gram dengan panjang 10-13 cm sebanyak 15 ekor ikan/kontainer perlakuan. Ikan diaklimatisasi selama 4 hari pada wadah uji sebelum diberikan perlakuan. Aklimatisasi ikan ini bertujuan agar ikan tidak stres dan memberikan waktu ikan untuk beradaptasi dengan lingkungan yang ada. Selama ikan diaklimatisasi dan diberikan perlakuan, ikan diberi pakan pelet sebanyak 2 kali sehari (pagi dan sore) dengan metode sekenyangnya (*ad satiation*). Selama perlakuan, dilakukan penyifonan wadah uji sebanyak tiga kali dalam satu minggu. Ikan nila yang akan digunakan untuk penelitian dilakukan verifikasi terbebas dari bakteri *S. agalactiae*. Pengujian deteksi *S. agalactiae* dilakukan dengan isolasi dan identifikasi pada 5 ekor ikan. Deteksi *S. agalactiae* ini dilakukan untuk memastikan ikan yang digunakan dalam perlakuan terbebas dari penyakit khususnya streptococcosis.

3.4.2 Tahap Pelaksanaan

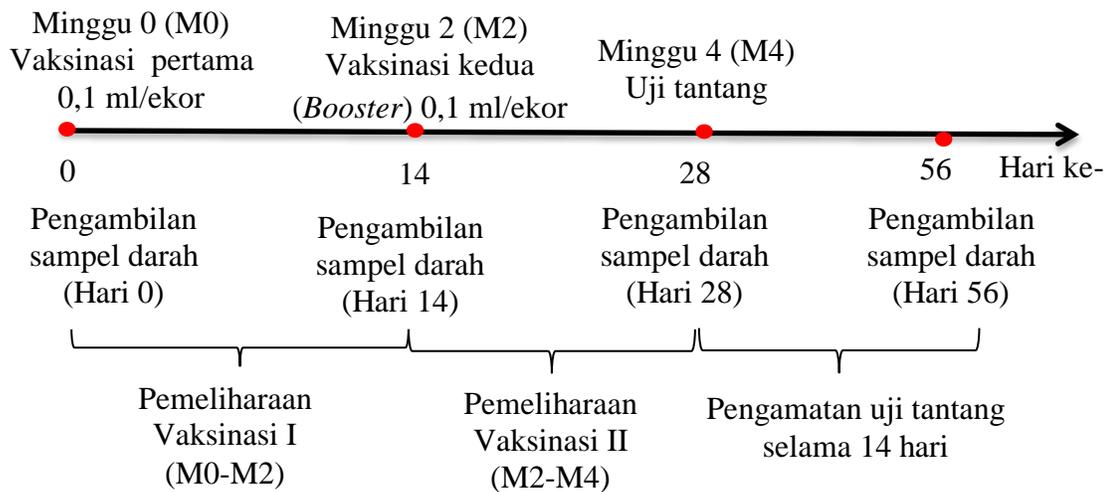
3.4.2.1 Sediaan Vaksin dan Penyuntikan Vaksin *Streptococcus* spp.

Vaksin yang digunakan merupakan sediaan vaksin yang berada di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang. Vaksin berbentuk adjuvan cair dengan tiga komposisi antigen *S. agalactiae* biotipe 1 *serotype* Ib (Sa-Ib) inaktif, *S. agalactiae* biotipe 2 *serotype* Ia (Sa-Ia) aktif, dan *S. agalactiae* biotipe 2 *serotype* III (Sa-III) aktif (Gambar 6).



Gambar 6. Vaksin *Streptococcus* spp. yang digunakan

Vaksinasi diberikan ke ikan uji melalui penyuntikan secara intraperitoneal (IP) dengan dosis sebanyak 0,1 ml/ekor. Ikan dengan perlakuan kontrol dilakukan penyuntikan larutan *phosphate buffer saline solution* (PBS) sebanyak 0,1 ml/ekor secara intraperitoneal. Pada hari ke-14 (minggu kedua) pasca vaksin pertama, ikan uji diberi perlakuan penyuntikan vaksin kedua (*booster*) sebanyak 0,1 ml/ekor secara intraperitoneal pada kelompok perlakuan *booster* vaksin. Selain kelompok *booster* vaksin, ikan uji diberi perlakuan injeksi dengan PBS sebanyak 0,1 ml/ekor. Pengambilan sampel darah ikan uji untuk parameter pengamatan dilakukan sebanyak empat kali yaitu pada M0, M2, M4 dan M6. *Time line* penelitian dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. *Time line* penelitian

3.4.2.2 Penentuan *Lethal Dose* (LD_{50})

Penentuan *lethal dose* (LD_{50}) atau uji patogenisitas menggunakan ikan uji sebanyak 5 ekor ikan/perlakuan. Ikan nila diinfeksi dengan *S.agalactiae* secara injeksi intramuscular dengan dosis 0,1 ml suspensi bakteri dengan kepadatan 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 dan 10^9 cfu/ml. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 7 hari untuk mengetahui kematian pada masing-masing perlakuan.

3.4.2.3 Uji Tantang

Uji tantang dilakukan pada minggu keempat pasca vaksinasi dengan menginjeksikan bakteri *S. agalactiae* yang telah ditentukan nilai LD₅₀ secara intramuscular sebanyak dosis 0,1 ml/ekor. Masing-masing perlakuan diuji tantang terhadap bakteri homolog aktif. Jumlah ikan yang diuji tantang sebanyak 15 ekor/perlakuan. Pengamatan dilakukan selama 14 hari dengan diamati gejala klinis yang ada, perubahan tingkah laku, dan kematian ikan uji hingga akhir masa uji tantang.

3.5 Tahap Pengamatan

3.5.1 Respon Imun Ikan terhadap Vaksin

3.5.1.1 Titer Antibodi

Pengamatan terhadap titer antibodi dilakukan untuk mengetahui antibodi yang dihasilkan oleh ikan setelah diberi perlakuan vaksinasi. Metode uji titer antibodi dilakukan mengikuti metode Roberson (1990). Pengamatan titer antibodi dilakukan dengan mengambil darah ikan nila menggunakan *sputit* berukuran 1 ml. Darah nila diambil pada bagian *vena caudalis* dan ditampung dalam tabung *eppendorf* untuk memisahkan serum dengan sel darah, darah pada *eppendorf* disentrifugasi dengan kecepatan 1.500 rpm selama 10 menit. Serum yang terpisah dari sel darah dipindahkan ke tabung *eppendorf* dan diinkubasikan pada suhu 44°C selama 20 menit untuk menginaktivkan komplemen. Serum selanjutnya disimpan dalam refrigerator pada suhu 4°C untuk pengamatan titer antibodi. Pengukuran titer antibodi dilakukan dengan menyiapkan *microplate* 96 sumur. *Microplate* diisi dengan larutan PBS sebanyak 25 µl dan dimasukkan ke dalam *microplate* pada lubang 2 sampai 12, selanjutnya di masukkan serum darah pada lubang 1 dan 2 sebanyak 25 µl. Kemudian serum darah pada lubang 2 diencerkan secara bertingkat hingga lubang ke-11. Antigen sebanyak 25 µl dimasukkan ke dalam lubang 1 sampai 12, kemudian dihomogenkan dengan cara menggoyangkan *microplate* secara perlahan dan disimpan di dalam refrigerator 4°C selama 24 jam. Pengamatan nilai titer antibodi ditentukan dari lubang terakhir yang ditemukan reaksi aglutinasi.

3.5.1.2 Aktivitas Fagositosis

Peningkatan nilai titer antibodi selalu sejalan dengan peningkatan aktivitas fagositosis. Hal tersebut disebabkan antibodi bekerja dengan cara menghalangi efek antigen, antibodi membantu mempercepat eliminasi antigen dengan proses antibodi sebagai opsonin (opsonisasi). Makrofag lebih mudah mengenali antigen yang teropsonisasi sehingga lebih efektif untuk dihancurkan (Hardi *et al.*, 2013). Metode pengukuran aktivitas fagositosis dilakukan berdasarkan metode Anderson dan Siwicki (1993). Pengamatan tersebut dilakukan dengan menghitung persentase sel yang aktif melakukan proses fagositosis, dari 100 sel fagosit yang terlihat pada preparat, yang bersumber dari 50 μ l sampel darah yang telah dihomogenkan dengan 50 μ l bakteri *S. agalactiae* berkepadatan 10^9 cfu/ml. Perhitungan nilai aktivitas fagositosis dilakukan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas fagositosis (\%)} = \frac{\text{Jumlah sel yang memfagosit bakteri}}{\text{Total jumlah sel fagosit (*)}} \times 100\%$$

Keterangan :

(*) : Jumlah sel yang dihitung sebanyak 100, baik yang sedang memfagosit maupun tidak (Lampiran 3).

3.5.2 Kadar Hematokrit

Hematokrit menunjukkan angka persentase zat padat dalam darah terhadap cairan darah. Hematokrit dilakukan dengan membandingkan angka antara eritrosit dengan plasma, sehingga hematokrit memberikan rasio total eritrosit dengan total volume darah dalam tubuh (Dosim, 2013). Metode perhitungan kadar hematokrit dilakukan berdasarkan metode Anderson, (1993). Pengambilan sampel darah dihisap dengan tabung mikrohematokrit hingga mencapai $\frac{3}{4}$ bagian tabung. Ujung tabung ditutup dengan *crytoseal* sedalam 1 cm. Tabung mikrohematokrit yang telah berisi darah disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3.500 rpm. Pengukuran nilai kadar hematokrit dilakukan dengan membandingkan volume padatan sel darah merah de-

ngan volume total darah pada skala hematokrit, dimana ditentukan dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Kadar Hematokrit (\%)} = \frac{\text{Panjang volume sel darah merah yang mengendap}}{\text{Panjang total volume darah dalam tabung}} \times 100\%$$

3.5.3 Tingkat Kelulushidupan (TKH)

Tingkat kelulushidupan atau *survival rate* (SR) diamati setiap hari pada saat masa pengamatan ujiantang selama 14 hari. Perhitungan kelulushidupan menggunakan persamaan menurut Effendi, (2002) sebagai berikut:

$$\text{Tingkat kelulushidupan (\%)} = \frac{N_t}{N_0} \times 100\%$$

Keterangan :

N_t : Jumlah ikan nila yang hidup pada akhir pengamatan

N_0 : Jumlah ikan nila pada awal pengamatan

3.5.4 Tingkat Kelulushidupan Relatif (TKR)

Tingkat kelangsungan hidup relatif atau *relative percent survival* (RPS) dihitung untuk mengetahui efektivitas vaksin yang diberikan pasca ujiantang. Tingkat kelangsungan hidup relatif dihitung pada akhir pemeliharaan dengan menggunakan persamaan menurut Baulny *et al.*, (1996) sebagai berikut:

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

3.5.5 Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis diamati secara visual setiap hari selama masa ujiantang. Pengamatan gejala klinis yang diamati pasca infeksi *S. agalactiae* berupa gejala makroskopis berdasarkan Suhermanto (2020), yaitu pola berenang ikan yang abnormal dapat berupa *gasping* (ikan berenang tegak dengan posisi mulut tepat di bawah permukaan air), *erratic* (Ikan bergerak tidak menentu), dan *whirling* (ikan bergerak berputar). Gejala lainnya, yaitu kondisi mata ikan unilateral atau bilateral eksophtalmia (mata menonjol), ikan mengalami *purulens* (mata putih), dan terjadinya *ocular opacity* atau mata mengalami kekeruhan. Perubahan anatomi organ luar, ikan melengkung membentuk huruf C (*C-shape*), serta respon ikan terhadap pakan, ikan dengan infeksi streptococcosis biasanya tidak mau makan, berenang di dasar dan soliter. Pengamatan gejala klinis ikan nila yang telah diinfeksi bakteri *S. agalactiae* dilakukan dengan menggunakan metode skoring yang merujuk pada Aniputri *et al.* (2014) dengan modifikasi. Nilai skor gejala klinis untuk menunjukkan tingkat keparahan infeksi yang disajikan pada Lampiran 9 dan dilakukan dengan ketentuan sebagai berikut:

Ikan tidak menunjukkan gejala infeksi	nilai skor : 0
Mata keruh / <i>ocular opacity</i> (O)	nilai skor : 1
Mata putih / <i>purulens</i> (P)	nilai skor : 2
Mata menonjol / <i>eksophtalmia</i> (E)	nilai skor : 3
Ikan melengkung membentuk huruf C (C)	nilai skor : 4
Ikan berenang berputar / <i>hirling</i> (W)	nilai skor : 5
Ikan mati / <i>death</i> (D)	nilai skor : 6

3.5.6 Kualitas Air

Pengukuran kualitas air meliputi suhu, pH, *dissolved oxygen* (DO), dan nitrit. Pengukuran parameter kualitas air dilakukan pada awal dan akhir pemeliharaan.

3.6 Analisis Data

Data hasil pengamatan pengaruh perlakuan terhadap aktivitas fagositosis dan kadar hematokrit dianalisis dengan sidik ragam (Anova) untuk mengetahui pengaruh perlakuan yang diterapkan. Analisis dilakukan menggunakan program IBM SPSS 22 dengan selang kepercayaan 95%. Jika hasil analisis diperoleh beda nyata ($P < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji Duncan untuk melihat perbedaan dari pengaruh masing-masing perlakuan. Parameter tingkat kelulushidupan dianalisis dengan uji *fisher exact* untuk melihat pengaruh perlakuan yang diterapkan. Pada parameter nilai titer antibodi, tingkat kelulushidupan relatif, gejala klinis, dan kualitas air dianalisis secara deskriptif dan data ditabulasi menggunakan bantuan program Microsoft Excel 2010.

V. PENUTUP

5.1 Simpulan

Kesimpulan dari penelitian ini, yaitu:

1. Pemberiaan *booster* vaksin *Streptococcus* spp. terhadap ikan nila mampu memberikan nilai efektivitas vaksin 41,39% lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian vaksin satu kali yaitu sebesar $79,31 \pm 6,67\%$.
2. Pemberian vaksin *booster* mampu meningkatkan respon imun spesifik dan non-spesifik pada ikan nila ditandai dengan kenaikan nilai titer antibodi terhadap antigen Sa-Ia setelah ujiantang mencapai 426,27, meningkatnya nilai aktivitas fagositosis hingga $46,33 \pm 1,53\%$, nilai SR mencapai $87,00 \pm 6,51\%$, dan memiliki kadar hematokrit normal.
3. Peningkatan respon imun dan kekebalan tubuh ikan yang tinggi terhadap infeksi bakteri *Streptococcus agalactiae* menunjukkan bahwa pemberian *booster* vaksin *Streptococcus* spp. lebih efektif dalam meningkatkan kekebalan tubuh ikan terhadap infeksi *S. agalactiae*.

5.2 Saran

Pemberian *booster* vaksin pada ikan sangat disarankan karena memberikan peningkatan respon imun pada ikan yang lebih baik dan dalam jangka waktu yang lama. Selain pemberian vaksin sebagai pencegahan infeksi dalam budi daya ikan perlu mengikuti cara budi daya ikan yang baik (CBIB) dengan memperhatikan kualitas air yang baik pada budi daya sehingga serangan infeksi bakteri dapat dicegah.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Lichman, A.H., & Pillai, S. 2018. *Cellular and Molecular Immunology*, 9th edn. Elsevier. Philadelphia. 21-56 hlm.
- Agung, L.A. 2023. Vaksinasi ikan sebagai upaya peningkatan kekebalan tubuh pada ikan. *Jurnal Inovasi Penelitian*. 3(8):7263-7270.
- Agustin, P.L., Kusdarwati, R., & Mahasri, G. 2016. Pengaruh pemberian vaksin *whole cell Aeromonas hydrophilla* dengan dosis yang berbeda terhadap kelulushidupan dan total leukosit ikan gurami (*Osporonemus gourami*). *Journal of Aquaculture and Fish Health*. 6(1):1-7.
- Aliyas, S., Ndobe, Z.R., & Ya'la. 2016. Pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan nila (*Oreochromis* sp.) yang dipelihara pada media bersalinitas. *Jurnal Sains dan Teknologi Tadulako*. 5(1):19-27.
- Anderson, D.P. 1992. Immunostimulant, adjuvant, and vaccine carrier in fish: Applications to aquaculture. *Annual Review of Fish Diseases*. 2:281-307.
- Andriani, Y., Kamil, T.I., & Iskandar, I. 2018. Efektivitas probiotik BIOM-S terhadap kualitas air media pemeliharaan ikan nila nirwana (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Ilmu ilmu perairan dan perikanan (Depik)*. 7(3):209-217.
- Aniputri, F.D., Hutabarat, J., Subandiyono. 2014. Pengaruh ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) terhadap tingkat pencegahan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla* dan kelulushidupan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3(2):1-10.
- Arifin, M.Y. 2016. Pertumbuhan dan *survival rate* ikan nila (*Oreochromis* sp.) strain merah dan strain hitam yang dipelihara pada media bersalinitas. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*. 16(1):159-166.
- Austin, B., & Austin, D.A. 2007. *Bacterial Fish Pathogens. Disease of Farmed and Wild Fish. 4th Edition*. Springer, Praxis Publishing. Colchester, UK. 34 hlm.
- Daenuri, D., & Sinaga, H.W. 2011. Patogenesis *Streptococcus alactiae* dan *Streptococcus iniae* pada ikan nila. *Jurnal Berita Biologi*. 10(5):11-18.

- Dailami, M., Rahmawati, A., Saleky, D., Hamid, A., & Toha, A. 2021. *Ikan Nila. Brainy Bee*. Malang. 14-23 hlm.
- Dana, D., Nur, dan Sukenda. 2004. Ketahanan benih ikan nila gift (*Oreochromis niloticus* linn.) dari hasil induk yang diberi vaksin terhadap infeksi buatan *Streptococcus iniae*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 3 (1):37-43.
- Dhiba, A.A.F., Syam, H., & Ernawati. 2019. Analisis kualitas air pada kolam pendederan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dengan penambahan tepung daun singkong (*Manihot utilissima*) sebagai pakan buatan. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*. 17(12):2087–2090.
- Ellis, A.E. 1988. *General Principles of Fish Vaccination: Fish Vaccination*. Academic Press. New York. 125 hlm.
- Evans, J.J., Klesius, P.H. & Shoemaker, C.A. 2006. An overview of *Streptococcus* in warmwater fish. *Aquaculture Health International*. 7:10-14.
- Evans, J.J., Klesius, P.H., Glibert, P.M., Shoemaker, C.A., Al Sarawi, M.A., Landsberg, J, Duremdez, R., Al Marzouk, A., & 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.
- Fadillah, H., Junaidi, M., & Azhar, F. 2022. Efektivitas penggunaan *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter* untuk perbaikan kualitas air media budidaya ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal Perikanan*. 12(1):54-65.
- Fadli, M.B.I., Syahrizal, & Ghofur, M. 2022. Imunitas benih ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberikan vaksin *Streptococcus agalactiae* melalui pakan. *Jurnal Akuakultur Sungai dan Danau*. 7(2):74-78.
- Fauzi, M. 2020. Penggunaan berulang vaksin *Streptococcus agalactiae* untuk penanggulangan penyakit streptococcosis pada benih ikan nila. (*Skripsi*). Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. 17-23 hlm.
- Froese, R. & Pauly, D. Editors. 2023. Fishbase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (2/2023).
- Hardi, E.H., Sukarti, K., Anggridini, M. 2020. Peningkatan efikasi vaksinasi pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan penambahan ekstrak tanaman terung asam dan lempuyang. *Jurnal Veteriner*. 21(2):256-266.

- Hardi, E.H., Sukenda, Haris, E., Lusiastuti, M.A. 2013. Kandidat vaksin potensial *Streptococcus agalactiae* untuk pencegahan penyakit streptococcosis pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Veteriner*. 14(4):408-416.
- Hardi, E.H., Sukenda, Harris E., & Lusiastuti, M.A. 2011. Karakteristik dan patogenitas *Streptococcus agalactiae* tipe β -hemolitik dan non-Hemolitik pada ikan nila. *Jurnal Veteriner*. 12(2):152-164
- Hardie & Whiley. 1997. Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*. 83:1S-11S.
- Hidayatullah, D., Sukenda, Nuryati, S., Mulyani, R., & Kirniaji, A. 2022. Efikasi vaksin booster *Streptococcus agalactiae* pada induk ikan nila terhadap imunitas maternal untuk pencegahan streptococcosis. *Jurnal Ilmu-ilmu Perikanan dan Budidaya Perairan*. 17(2):102-114.
- Imperi, M., Pataracchia, M., Alfareno, G., Baldassarri, L., Orefici, G., & Creti, R. 2010. A multiplex PCR assay for the direct identification of the capsular type (Ia to IX) of *Streptococcus agalactiae*. *Journal of Microbiological Methods*. 80(1):212–214.
- Ismail, M.S., Zahrah, S., Syafiq, M.R., Amal, M.N.A., Nawil, F.M., & Saad, Z.M. 2016. Feed-based vaccination regime against streptococcosis in red tilapia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*. *BMC Veterinary Research*. 12(194):1-6.
- Kumru, O.S., Joshi S.B., Smith D.E., Middaugh C.R., Prusik T., & Volkin D.B. 2014. Vaccine instability in the cold chain: Mechanisms, analysis and formulation strategies. *Biologicals*. 42(5):237-259.
- Linh, N.V., Dien, L.T., Dong, H.T., Khongdee, N., Hoseinifar, S.H., Musthafa, M.S., Dawood, M.A.O., Van, D.H. 2022. Efficacy of different routes of formalin-killed vaccine administration on immunity and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) challenged with *Streptococcus agalactiae*. *Journal Fishes*. 7(6):1-13.
- Lucas J.S., Southgate P.C., Tucker C.S. 2019. *Aquaculture Farming Aquatic Animals and Plants*. Wiley Blackwell. New Jersey (US). 164 hlm.
- Lusiastuti, M.A., Gardenia, L., Mufidah, T., & Aryati, Y. 2009. *Streptococcus agalactiae* infection on tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Cirata Reservoir of West Java. *Indonesian Aquaculture Journal*. 4(1):47-51.

- Mai, T.T., Kayansamruaj, P., Taengphu, S., Senapin, S., Costa, J.Z., Del-Pozo, J., Thompson, K.D., Rodkhum, C., Dong, H.T. 2021. Efficacy of heat-killed and formalin-killed vaccines against Tilapia tilapinevirus in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal Fish Disease*. 44(12):2097-2109.
- Maryani, Rozik, M., Nursiah., & Asri P. 2021. Gambaran aktivasi sistem imun ikan nila (*Oreochromis niloticus*) terhadap penambahan tepung daun sangkareho (*Callicarpa longifolia* Lam.) melalui pakan. *Jurnal Akuakultur Sungai dan Danau*. 6(2):74-81.
- Maulinia, & Herlina, S. 2022. Gambaran darah sebagai indikator kesehatan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi pakan tambahan probiotik rabbal. *Jurnal Ilmu Hewani Tropika*. 11(1):11-16.
- Mujalifah., Santoso, H., & Laili, S. 2018. Kajian morfologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dalam habitat air tawar dan air payau. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis*. 3(3):10-17.
- Noor, H.F., & Jati, C.W. 2023. Efektifitas vaksin inaktif *Aeromonas salmonicida* terhadap ikan mas *Cyprinus carpio*. *Jurnal Ilmiah Bahari Papadak*. 4(1):32-37.
- Nugroho A, Arini E, & Elfitasari T. 2013. Pengaruh kepadatan berbeda terhadap kelulushidupan dan pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) pada sistem resirkulasi dengan filter arang. *Journal Of Aquaculture Management and Technology*. 2(3):94-100.
- Nugroho, A.R., & Nur, M.F. 2018. *Potensi Bahan Hayati Sebagai Immunostimulan Hewan Akuatik*. Deepublish. Yogyakarta. 54 hlm.
- Pane, N., Riauваты, M., & Lukistyowat, L. 2021. Pengaruh pemberian pakan yang mengandung vaksin Hydrovac terhadap jumlah eritrosit ikan jambal siam (*Pangasius hipophthalmus*) yang dipelihara dalam keramba. *Jurnal Akuakultur Sebatin*. 2(1):32-43.
- Parelberg, A., Ronen, A., Hutoran, M., Smith, Y. & Kotler, M. 2005. Protection of cultured *Cyprinus carpio* disease by an attenuated virus vaccine. *J. Vaccine*. 23:3396-3403.
- Pasnik, D.J., Evans, J.J., Klesius, P.H. 2005. Duration of protective antibodies and correlation with survival in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* following *Streptococcus agalactiae* vaccination. *Diseases of Aquatic Organisms*. 66:129-134.

- Pasnik, D.J., Evans, J.J., Panangala, V.S., Klesius, P.H., Shelby, R.A., & Shoemaker, C.A. 2005. Antigenicity of *Streptococcus agalactiae* extracellular products and vaccine efficacy. *Journal of Fish Diseases*. 28(1):205-212.
- Rahmi, Nisa, K., Akmal, Mardiana, Chadijah, A., & Salam, N.I. 2021. Peningkatan ketahanan benih ikan nila salin (*Oreochromis niloticus*) terhadap penyakit streptococcosis melalui vaksinasi induk. *Jurnal Perikanan Universitas Gajah Mada*. 23(1):31-36.
- Reynalta, R., Yuhana, M., & Lusiastuti. 2018. Efektivitas vaksin bakterial *Streptococcus agalactiae* dengan penyalut berbeda terhadap peningkatan kinerja imunitas ikan nila *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Jurnal Iktiologi Indonesia*. 19(2):205-215.
- Rusli & Nurdin, F. 2021. Efektifitas vaksin sel utuh *Streptococcus agalactiae* yang Direndam pada *Artemia* sp. dengan waktu pemberian yang berbeda pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Seminar Nasional Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan*. 176-181 hlm.
- Saleh, J., Budi, S., & Salam, S. 2021. *Pengembangan Budidaya Ikan Nila*. Pusaka Almada. Gowa, Sulawesi Selatan. 75-84 hlm.
- Setyawan, A. & Fidyandini, H.P. 2019. *Imunologi Ikan*. Anugrah Utama Raharja. Bandar Lampung. 29-31 hlm.
- Setyawan, A., Hudaidah, S., Ranopati, Z.Z., & Sumino. 2012. Imunogenisitas vaksin inaktif *whole cell Aeromonas salmonicida* pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan*. 1(1):17-22.
- Sheehan B., Labrie L., Lee Y.S., Wong F.S., Chan J., Komar C., Wendover N., & Grisez L. 2009. Streptococcal diseases in farmed tilapia. *Aquaculture Asia Pacific* 5:26–29.
- Sherif, A.H., & Leila Abu, R.H. 2022. Prevalence of some pathogenic bacteria in caged- Nile tilapia (*Oreochromis Niloticus*) and their possible treatment. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 15(2):239– 247.
- Sherif, A.H., Gouda, M.Y., Naena, N.A., & Ali, A.H. 2020. Alternate weekly exchanges of feeding regime affect the diversity of intestinal microbiota and immune status of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Research*. 51(10):4327-4339.
- Sugiani D., Sukenda., Harris E., & Lusiastuti M.A. 2013. Vaksinasi ikan tilapia (*Oreochromis niloticus*) menggunakan vaksin monovalen dan bivalen untuk

- pengecahan penyakit *motile aeromonas septicemia* dan streptococcosis. *Jurnal Riset Akuakultur*. 8(2):230-239.
- Suhermanto, A., Gardenia, L., Hermawan, T., Astuti., Taqwa, F.H.m & Poltak, H. 2022. Sosialisasi program dari papua untuk semua sebagai upaya meningkatkan pengetahuan masyarakat tentang pentingnya vaksin dan vaksinasi. *Jurnal Masyarakat Mandiri*. 6(4): 2927-2939.
- Suhermanto, A., Herdianto, T., Suhermin, Ridwan, & Nurmawanti, I. 2019. Karakteristik bakteri *Streptococcus agalactiae* NP104O, S01-196-16 dan NMbO penyebab streptococcosis pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Airaha*. 8(2):114-120.
- Suhermanto, A., Suhermin, Ridwan, Astuti, A., & Nurmawanti, I. 2019. Pola infeksi *Streptococcus agalactiae* strain NP1050 dan N₁₄G pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Riset Akuakultur*. 15(1):51-58.
- Sukenda, Rusli, Nuryati S, & Hidayatullah D. 2015. Durasi proteksi vaksin *Streptococcus agalactiae* untuk pencegahan streptococcosis pada ikan nila. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 14(2): 192–201.
- Sumule, J., Trisnawati, Tobigo, D., & Rusaini. 2017. Aplikasi probiotik pada media pemeliharaan terhadap pertumbuhan dan sintasan ikan nila merah (*Oreochromis sp.*). *Jurnal Agrisains*. 18(1):1–12.
- Supriyadi, H. 2006. Infeksi bakteri *Streptococcus iniae* pada ikan budi daya di Indonesia. *Media Akuakultur*. 1(2):71-73.
- Supriyadi, H., & Gardenia, L. 2010. Streptococcosis pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) budidaya di Danau Maninjau. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*. 905-910 hlm.
- Supriyadi, H., Sugiani, D., Purwaningsih, U. 2007. Peningkatan kekebalan spesifik anti streptococcus pada budi daya ikan nila. *Jurnal Riset Akuakultur*. 2(1):87-92.
- Supriyanti, S. 2015. Virulensi bakteri *Streptococcus agalactiae* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). (Skripsi). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. 47 hlm.
- Syuhriatin. 2020. Analisis pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) terhadap pemberian pakan yang berbeda (studi kasus: Desa Sigerongan Kecamatan Lingsar, Kabupaten Lombok barat). *Jurnal Media Bina*. 14(6):2745-2748.

- Taufik, I. Mulyana, Lusiastuti, M.A. 2016. Keefektifan vaksin *Streptococcus agalactiae* untuk mencegah streptococcosis pada ikan nila. *Jurnal Mina Sains*. 2(2):80-86.
- Taukhid, & Purwaningsih U. 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*. 6(1):103-118.
- Taukhid, Purwaningsih, U., Sugiani, D., Sumiati, T., & Lusiastuti, M.A. 2015. Efikasi vaksin in-aktif bakteri *Aeromonas hydrophila*-AHL0905-2 (Hydrovac) dan *Streptococcus agalactiae*-N14G (streptovac) untuk pencegahan penyakit bakterial pada budidaya ikan air tawar. *Jurnal Riset Akuakultur*. 10(4):541-551.
- Taukhid, Tuti S., & Septyan A. 2018. Efektivitas metode aplikasi vaksin trivalen untuk pencegahan penyakit bakteri potensial pada budidaya ikan air tawar. *Jurnal Riset Akuakultur*. 13(1):67-76.
- Toranzo, A.E., Romalde, J.L., Magarinos, B., & Barja, J.L. 2009. Present and future of aquaculture vaccines against fish bacterial diseases. The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture. *Options Mediterraneennes*. 86:155-176.
- Yanuhar, U., & Caesar, R. N. 2022. *Imunologi Molekuler Untuk Ikan*. UB Press. Malang. 8-9 hlm.
- Zatempowska, E., Twaruzek, M., Grajewski, J., & Lassa, H. 2022. Virulence factor genes and cytotoxicity of *Streptococcus agalactiae* isolated from bovine mastitis in poland. *Microbiology Spectrum*. 10(3):1-8.
- Zeng, W., Wang, Y., Chen, X., Wang, Q., Bergmann, S., Yang, Y., Wang, Y., Li, B., Lv. Y., Li, H., Lan, W. 2021. Potency and efficacy of VP20-based vaccine against tilapia lake virus using different prime-boost vaccination regimens in tilapia. *Elsevier: Aquaculture*. 539:1-11.