

**IMUNOGENISITAS DAN TINGKAT KEAMANAN VAKSIN POLIVALEN
Streptococcus PADA IKAN NILA *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)**

SKRIPSI

Oleh

**ERMA KUSUMA WARDANI
1914111030**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

**IMUNOGENISITAS DAN TINGKAT KEAMANAN VAKSIN POLIVALEN
Streptococcus PADA IKAN NILA *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)**

Oleh

ERMA KUSUMA WARDANI

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERIKANAN

Pada

**Jurusan Perikanan dan Kelautan
Fakultas Pertanian**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRACT

THE IMMUNOGENICITY AND SAFETY LEVELS OF *Streptococcus* POLYVALENT VACCINES IN TILAPIA *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)

BY

Erma Kusuma Wardani

Tilapia is one of the leading commodities in Indonesian aquaculture. One of the diseases that often becomes an obstacle in tilapia cultivation is streptococcosis that caused by *Streptococcus* bacteria. *Streptococcus* polyvalent vaccine has been developed to prevent streptococcosis, but the immunogenicity and safety level of this vaccine are not yet known. This study had purposes to analyze the effect of *Streptococcus* polyvalent vaccines on antibody titer values and level of safety for tilapia. This research was conducted at Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan Serang. There were two stages of testing, namely the immunogenicity test by administer *Streptococcus* polivalen vaccine by intraperitoneal injection 0.1 ml/fish. As the positive control fish that injected with 0.1 ml/fish NaCl, and negative control fish that no injected with both vaccine and NaCl. The antibody titer was measured on days 0, 7, 14, 21, 28, and 35. The second stage, fish were tested by the same vaccine at dose 0.2 ml/fish for measured histopatologi and melanomacrophage on days 0, 2, 7, 14, and 21. The results showed that giving of *Streptococcus* polyvalent vaccine could increase antibodies 32%. The spleen MMC of the vaccinated tilapia increased rapidly on day 21 with an area of 23,625.17 μm^2 . Based on the histopathology of tilapia, there was no significantly difference between vaccine treatments and unvaccinated. The tilapia survival reached 100% with absolute weight and length growth results not significantly different between treatments. The conclusion of this research is *Streptococcus* polyvalent vaccine can increase the value of antibody titers and safe to be applied of tilapia.

Key Words : Antibody titer, histopathology, melanomacrophage center, *Streptococcus* polyvalent vaccine, tilapia

ABSTRAK

IMUNOGENISITAS DAN TINGKAT KEAMANAN VAKSIN POLIVALEN *Streptococcus* PADA IKAN NILA *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)

OLEH

Erma Kusuma Wardani

Ikan nila merupakan salah satu komoditas unggulan perikanan budi daya di Indonesia. Salah satu kendala dalam budi daya nila adalah penyakit streptococcosis yang diakibatkan oleh bakteri *Streptococcus*. Vaksin polivalen *Streptococcus* telah dikembangkan untuk mencegah penyakit streptococcosis pada ikan nila, namun belum diketahui imunogenisitas dan tingkat keamanan vaksin tersebut. Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh vaksin polivalen *Streptococcus* terhadap nilai titer antibodi dan tingkat keamanan terhadap nila. Penelitian ini dilakukan di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan Serang. Terdapat dua tahap pengujian, yaitu uji imunogenisitas dengan pemberian vaksin *Streptococcus* polivalen dengan injeksi intraperitoneal 0,1 ml/ekor. Sebagai kontrol positif ikan diinjeksi dengan NaCl 0,1 ml/ekor, dan pada ikan kontrol negatif tidak diinjeksi baik vaksin maupun NaCl. Titer antibodi diukur pada hari ke-0, 7, 14, 21, 28, dan 35. Tahap kedua, ikan diuji dengan vaksin yang sama dengan dosis 0,2 ml/ekor untuk diukur histopatologi dan melanomakrofag pada hari ke-0, 2, 7, 14, dan 21. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian vaksin polivalen *Streptococcus* dapat meningkatkan antibodi sebanyak 32%. MMC limpa nila yang divaksin meningkat pesat di hari ke-21 dengan luas 23.625,17 μm^2 . Berdasarkan histopatologi nila, antar perlakuan vaksin dan kontrol negatif tidak ditemukan perbedaan. *Survival rate* nila mencapai 100% dengan hasil pertumbuhan bobot dan panjang mutlak tidak berbeda nyata antar perlakuan. Simpulan dari penelitian ini adalah vaksin polivalen *Streptococcus* dapat meningkatkan nilai titer antibodi dan aman untuk diaplikasikan pada nila.

Kata Kunci: Histopatologi, melanomakrofag center, nila, titer antibodi, vaksin polivalen *Streptococcus*

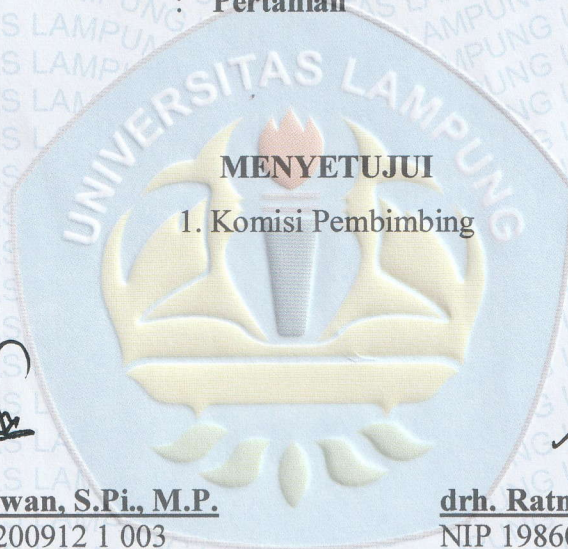
Judul Skripsi : **IMUNOGENISITAS DAN TINGKAT KEAMANAN VAKSIN POLIVALEN *Streptococcus* PADA IKAN NILA *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)**

Nama Mahasiswa : **Erma Kusuma Wardani**

Nomor Pokok Mahasiswa : **1914111030**

Program Studi : **Budidaya Perairan**

Fakultas : **Pertanian**



MENYETUJUI
1. Komisi Pembimbing

Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.
NIP 19840805 200912 1 003

drh. Ratna Amalia Kurniasih
NIP 19860912 201403 2 001

2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan Universitas Lampung

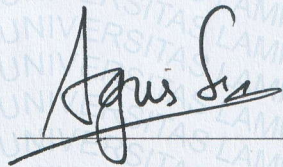
Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si.
NIP 19700815 199903 1 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

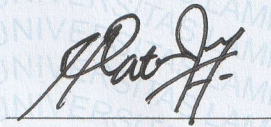
Ketua

: **Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.**




Sekretaris

: **drh. Ratna Amalia Kurniasih**



Penguji

: **Dr. Supono, S.Pi., M.Si.**



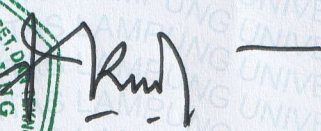
Bukan Pembimbing

2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Arwan, Sukri Banuwa, M.Si.

1020 198603 1 002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **26 Juni 2023**

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Karya tulis/skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik sarjana baik Universitas Lampung maupun perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri tanpa bantuan pihak lain, kecuali 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 ketidaksamaan dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya tulis ini sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Bandar Lampung, 21 September 2023

Yang membuat pernyataan



Erma Kusuma Wardani
NPM. 1914111030

RIWAYAT HIDUP



Penulis memiliki nama lengkap Erma Kusuma Wardani. Penulis lahir di Kotaagung Barat, Tanggamus, Lampung pada tanggal 10 Agustus 2000, sebagai anak pertama dari dua bersaudara dari ayah yang bernama Sulamto dan ibu yang bernama Khomsiah. Penulis menempuh pendidikan formal di TK Al-Barkah pada tahun 2005-2006, SD Negeri 1 Pajajaran pada tahun 2006-2012, MTS Negeri 1 Tanggamus pada tahun 2012-2015, dan SMA Negeri 1 Kotaagung pada tahun 2015-2018. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan strata-1 pada tahun 2019 di Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten dosen pada mata kuliah Imunologi Ikan dan mata kuliah Hama dan Penyakit Ikan. Selain itu, penulis pernah mengikuti beberapa kegiatan di dalam dan luar kampus. Penulis mengabdikan ilmu dan keahlian kepada masyarakat dengan melaksanakan kegiatan Kuliah Kerja Nyata di Desa Bandar Kejadian, Kecamatan Kotaagung Barat, pada tahun 2022. Penulis menerapkan ilmu yang telah didapatkan selama perkuliahan dalam Praktik Umum (PU) di Laboratorium Patologi, Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang. Penulis pernah mengikuti kegiatan Merdeka Belajar Kampus Merdeka (MBKM) riset/penelitian di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang pada tahun 2022. Penulis pernah mengikuti magang di PT. Berkah Benur Mandiri (BBM), Kalianda pada tahun 2021. Penulis pernah menjadi anggota Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan pada Bidang Pengabdian Masyarakat pada tahun 2021/2022.

PERSEMBAHAN

Dengan rasa syukur kepada Allah SWT atas segala kenikmatan, kebaikan, dan kemudahan yang selalu mengiringi langkah seluruh hambanya.

Aku persembahkan sebuah karya sederhana ini kepada:

Manusia paling berharga dalam hidupku, Ayah Sulamto dan Ibu Khomsiah tercinta yang telah menjadi matahari dan sandaran hidupku, sehingga aku tidak pernah merasa sendiri dalam menjalani takdir ini. Terima kasih telah menjadi orang tua terbaik tanpa tepi untukku dan adik.

Adikku tercinta Fitri Rahmadani yang selalu memberikan kebahagiaan dan menjadi partner dalam banyak hal.

Seluruh keluarga besar yang telah memberikan doa dan dukungan. Sahabat-sahabat yang selalu kebersamai dari awal hingga akhir masa studi.

&

Almometer tercinta
Universitas Lampung

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih sedalam-dalamnya kepada Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang yang telah memfasilitasi dalam kegiatan penelitian ini.

MOTTO

"Rencana Tuhan tak pernah meleset satu noktah pun. Hanya saja, terkadang cara kita menyikapi takdir seolah membuat semuanya terlihat salah." (Fangirl tale)

"Jangan berhenti, terus saja berjalan, sebab siapa yang berhenti akan diseret oleh sejarah." (Soekarno)

"Semua yang dipelajari dengan mendengar hanya tak akan terlupakan bila diukir dalam hati." (Serial the greats woman Aisyah)

"Keberhasilan tidak hadir hanya kerana usaha, keberhasilan hadir juga karena kasih dari-Nya." (Erma Kusuma Wardani)

"Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan."
(Q.S. AR-Rahman [55]:13)

SANWACANA

Segala puji bagi Allah SWT atas segala limpahan nikmat, rahmat, dan karunia-Nya sehingga saya mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul “Imunogenisitas dan Tingkat Keamanan Vaksin Polivalen *Streptococcus* pada Ikan Nila *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)” sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana Perikanan di Universitas Lampung.

Selama proses penulisan skripsi ini penulis menyadari keterbatasan kemampuan yang dimiliki. Oleh karena itu, penulis banyak memperoleh bimbingan, dan saran dari berbagai pihak yang sangat membantu dalam penyelesaian karya ini. Dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih kepada:

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. Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D. selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung;
4. Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P. selaku Pembimbing Akademik dan Pembimbing Utama yang telah memberikan ilmu, motivasi, bimbingan, arahan, kritik, dan saran selama di perkuliahan dan penyusunan skripsi ini;
5. drh. Ratna Amalia Kurniasih selaku Pembimbing Kedua yang telah memberikan ilmu, motivasi, bimbingan, arahan, kritik, dan saran selama penyusunan skripsi ini;

6. Dr. Supono, S.Pi., M.Si. selaku Pembahas yang telah meluangkan waktu, memberi kritik, dan saran dalam penyelesaian skripsi ini;
7. drh. Toha Tusihadi selaku Kepala Balai Pengujian Kesehatan Ikan Dan Lingkungan (BPKIL) Serang yang telah memberi izin kepada penulis untuk melaksanakan penelitian di BPKIL Serang;
8. Bapak Joko, Bapak Kusyadi, Bapak Ahmad, dan seluruh staf Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan Serang (BPKIL) Serang atas bantuan yang telah diberikan selama penulis melaksanakan penelitian;
9. Kedua orang tua, adik, dan keluarga besar yang telah memberi doa, dukungan, cinta, dan kasih sayang luar biasa tak terhitung kepada penulis sehingga penulis mampu berada pada tahap ini;
10. Sahabat-sahabat seperjuangan yang selalu menjadi tempat berbagi cerita, menjadi rekan dalam segala suasana, memberi dukungan dan kebahagiaan: Siska Amelia, Widuri Nayunda Safitri, Nurfadila Maulana Hikmah, Diana Natasya, dan Ima Mulani;
11. Teman-teman program studi Budidaya Perairan angkatan 2019 yang tidak bisa disebutkan satu per satu, terima kasih atas kebersamaannya selama kuliah ini.

Semoga Allah SWT membalas seluruh kebaikan yang telah diberikan kepada penulis. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, akan tetapi penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna dan memberi manfaat.

Bandar Lampung, 21 September 2023
Penulis

Erma Kusuma Wardani

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	3
1.3 Manfaat.....	3
1.4 Kerangka Pikir	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Ikan Nila.....	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	6
2.1.2 Habitat.....	7
2.2 Penyakit Bakterial pada Nila.....	8
2.3 Karakteristik Bakteri <i>Streptococcus</i>	8
2.4 Gejala Klinis Streptococcosis.....	9
2.5 Sistem Imun.....	11
2.6 Melanomakrofag Center (MMC) pada Ikan.....	13
2.7 Vaksinasi pada Ikan.....	14

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat.....	17
3.2 Alat dan Bahan	17
3.3 Rancangan Penelitian	19
3.3.1 Imunogenisitas.....	19
3.3.2 Keamanan.....	20
3.4 Persiapan Penelitian	20
3.5 Pelaksanaan Penelitian.....	21
3.5.1 Vaksinasi.....	21
3.5.2 Pemeliharaan Ikan Pasca Vaksinasi.....	21
3.5.3 Preparasi Serum Ikan.....	22
3.6 Pengamatan Penelitian.....	22
3.6.1 Imunogenisitas.....	22
3.6.1.1 Titer Antibodi.....	22
3.6.1.2 Melanomakrofag Center (MMC).....	23
3.6.2 Keamanan.....	24
3.6.2.1 Histopatologi Limpa.....	24
3.6.2.2 Pertumbuhan Bobot dan Panjang Mutlak.....	27
3.6.2.3 <i>Survival Rate</i>	27
3.6.3 Parameter Kualitas Air.....	27
3.7 Analisis Data.....	28

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil.....	29
4.1.1 Titer Antibodi.....	29
4.1.2 Melanomakrofag Center (MMC).....	30
4.1.3 Histopatologi Limpa.....	30
4.1.4 Pertumbuhan Bobot dan Panjang Mutlak.....	32
4.1.5 <i>Survival Rate</i>	33
4.1.6 Kualitas Air.....	34
4.2 Pembahasan.....	36

4.2.1 Titer Antibodi.....	36
4.2.2 Melanomakrofag Center (MMC).....	39
4.2.3 Histopatologi Limpa.....	41
4.2.4 Pertumbuhan Bobot dan Panjang Mutlak.....	43
4.2.5 Survival Rate.....	45
4.2.6 Kualitas Air.....	46
V. SIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Simpulan.....	48
5.2 Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA.....	49
LAMPIRAN.....	57

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat yang digunakan pada penelitian.....	17
2. Bahan yang digunakan untuk penelitian.....	18
3. Nilai rerata titer antibodi dengan seluruh antigen.....	29
4. Luas, kepadatan, dan persentase area tutupan MMC	30
5. Abnormalitas organ limpa pada nila.....	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Diagram alir kerangka pikir.....	5
2. Ikan nila (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	7
3. Jalur pemrosesan dan presentasi antigen.....	13
4. Denah penempatan wadah penelitian imunogenisitas.....	19
5. Denah penempatan wadah penelitian keamanan.....	20
6. Gambaran histopatologi limpa nila.....	31
7. Pertumbuhan bobot mutlak ikan nila dengan perlakuan berbeda.....	32
8. Pertumbuhan panjang mutlak ikan nila dengan perlakuan berbeda.....	33
9. <i>Survival rate</i> (SR).....	33
10. Nilai suhu perairan budi daya selama penelitian.....	34
11. Nilai pH perairan budi daya selama penelitian.....	34
12. Nilai DO perairan budi daya selama penelitian.....	35
13. Nilai amonia perairan budi daya selama penelitian.....	35
14. Nilai H ₂ S perairan budi daya selama penelitian.....	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil titer antibodi.....	58
2. Hasil pengukuran pertumbuhan bobot mutlak nila.....	59
3. Hasil pengukuran pertumbuhan panjang mutlak nila.....	60
4. Luas MMC pada 5 foto masing-masing sampel limpa nila.....	60
5. Jumlah MMC dalam organ limpa nila.....	63
6. Hasil uji Kruskall-Wallis antigen Sa-Ia.....	65
7. Hasil uji Kruskall-Wallis antigen Sa-Ib.....	65
8. Hasil uji Kruskall-Wallis antigen Sa-III.....	65
9. Hasil uji Kruskall-Wallis antigen Si.....	66
10. Hasil uji Kruskall-Wallis bobot nila.....	66
11. Hasil uji Kruskall-Wallis panjang nila.....	66

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu dari lima komoditas unggulan perikanan budi daya di Indonesia. Ada beberapa hal penting yang menyebabkan ikan nila cukup banyak dikembangkan, salah satunya adalah nila merupakan ikan yang memiliki rentang toleransi salinitas cukup luas atau *euryhaline* (Fransisca *et al.*, 2021). Selain itu, nila juga dapat dibudidayakan secara ekstensif, semi intensif, dan intensif. Akan tetapi, budi daya nila tidak terlepas dari adanya hambatan, salah satu hambatan pada kegiatan produksi nila adalah adanya penyakit yang dapat menyebabkan penurunan total produksi nila. Berdasarkan data statistik KKP (2022) pada triwulan 1 tahun 2021 sampai triwulan 1 tahun 2022 volume produksi ikan nila di Indonesia mengalami penurunan 1,07%. Pada tahun 2021, Indonesia memproduksi nila sebanyak 361.968 ton dan menurun menjadi 358.094 ton nila pada tahun 2022.

Penurunan hasil produksi ikan nila di Indonesia ini salah satunya disebabkan oleh adanya serangan penyakit. Umumnya penyakit yang juga dapat menyerang ikan nila adalah streptococcosis yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus*. Penyakit streptococcosis ini tersebar cukup luas, bahkan mampu menginfeksi nila budi daya hampir di seluruh negara. Menurut Suhermanto *et al.* (2020) streptococcosis secara spesifik disebabkan oleh adanya infeksi 85% bakteri *S. agalactiae* dan 15% bakteri *S. iniae*. Infeksi *Streptococcus* pada nila mampu menyebabkan kematian secara signifikan hingga lebih dari 50% dalam periode 5 hingga 7 hari (Yanong *et al.*, 2019). Pada tahun 2018, kematian pada nila yang terjadi di Indonesia akibat streptococcosis mencapai 20-60% dan menimbulkan kerugian hingga 15 milyar

(Suhermanto *et al.*, 2020). Infeksi *Streptococcus* pada nila dapat menyebabkan kematian yang cukup tinggi, karena tingkat patogenitasnya yang tinggi dan juga rendahnya sistem imun yang dimiliki oleh ikan.

Dalam kegiatan budi daya, untuk menangani penurunan produksi ikan yang terjadi karena infeksi bakteri dapat dilakukan dengan beberapa cara, seperti pengobatan dan pencegahan. Pada ikan yang telah terinfeksi bakteri, penanganan yang dapat dilakukan adalah dengan pemberian obat-obatan, seperti antibiotik. Menurut Wu *et al.* (2012) pemberian antibiotik dalam pengobatan ikan adalah salah satu cara efektif guna menangani bakteri oportunistik pada kegiatan budi daya secara intensif. Pemberian antibiotik dengan dosis yang tidak tepat dan dalam waktu berkepanjangan dapat menyebabkan bakteri resisten terhadap antibiotik. Selain resistensi, residu yang dihasilkan akibat pemberian antibiotik juga dapat berakibat kurang baik apabila tidak ditangani dengan benar. Pada lingkungan dan ikan, residu yang dihasilkan dapat menyebabkan dampak ekologi dan kesehatan konsumen. Pada infeksi *Streptococcus*, pemberian antibiotik sudah tidak optimal untuk mengobati infeksi karena *Streptococcus* sudah sangat virulen dan resisten terhadap sejumlah antibiotik (Lusiastuti, 2022). Cara aman yang dapat dilakukan untuk menangani penyakit yang diakibatkan oleh *Streptococcus* adalah dengan melakukan pencegahan. Pencegahan yang dapat dilakukan pada infeksi bakteri *Streptococcus* adalah dengan melakukan vaksinasi pada ikan untuk meningkatkan sistem imun ikan dengan cara meningkatkan rentang toleransinya terhadap patogen.

Berdasarkan data KKP (2022) pada kegiatan budi daya telah beredar beragam jenis vaksin yang digunakan untuk menekan mortalitas nila, seperti Alphaject micro 1 Tila dan Aquavac Strep Sa yang merupakan vaksin monovalen guna mencegah infeksi yang disebabkan oleh bakteri *S. agalactiae*. Aquavac Strep Si untuk mencegah infeksi *S. iniae*, dan vaksin sediaan biologik Aquavac Strep Sa-Si merupakan vaksin bivalen untuk mencegah infeksi oleh bakteri *S. agalactiae* serotype Ib dan *S. iniae*. Menurut Mulia *et al.* (2015) vaksin yang terdiri dari beberapa strain mikroorganisme atau virus yang sama lebih efektif dalam melindungi ikan dari infeksi bakteri spesifik, seperti vaksin polivalen. Saat ini, vaksin polivalen *S.*

agalactiae telah mulai dikembangkan. Akan tetapi, saat ini belum diketahui mengenai imunogenisitas vaksin polivalen *Streptococcus* dan tingkat keamanan vaksin polivalen *Streptococcus* terhadap nila, sehingga dilakukanlah penelitian ini agar dapat mempelajari imunogenisitas dan tingkat keamanan vaksin polivalen *Streptococcus* pada ikan nila.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Menganalisis imunogenisitas vaksin polivalen *Streptococcus* dengan profil nilai titer antibodi, dan melanomakrofag center ikan nila (*Oreochromis niloticus*).
2. Menganalisis tingkat keamanan pemberian vaksin polivalen *Streptococcus* dengan mengacu pada *survival rate*, pertumbuhan, dan profil histopatologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*).

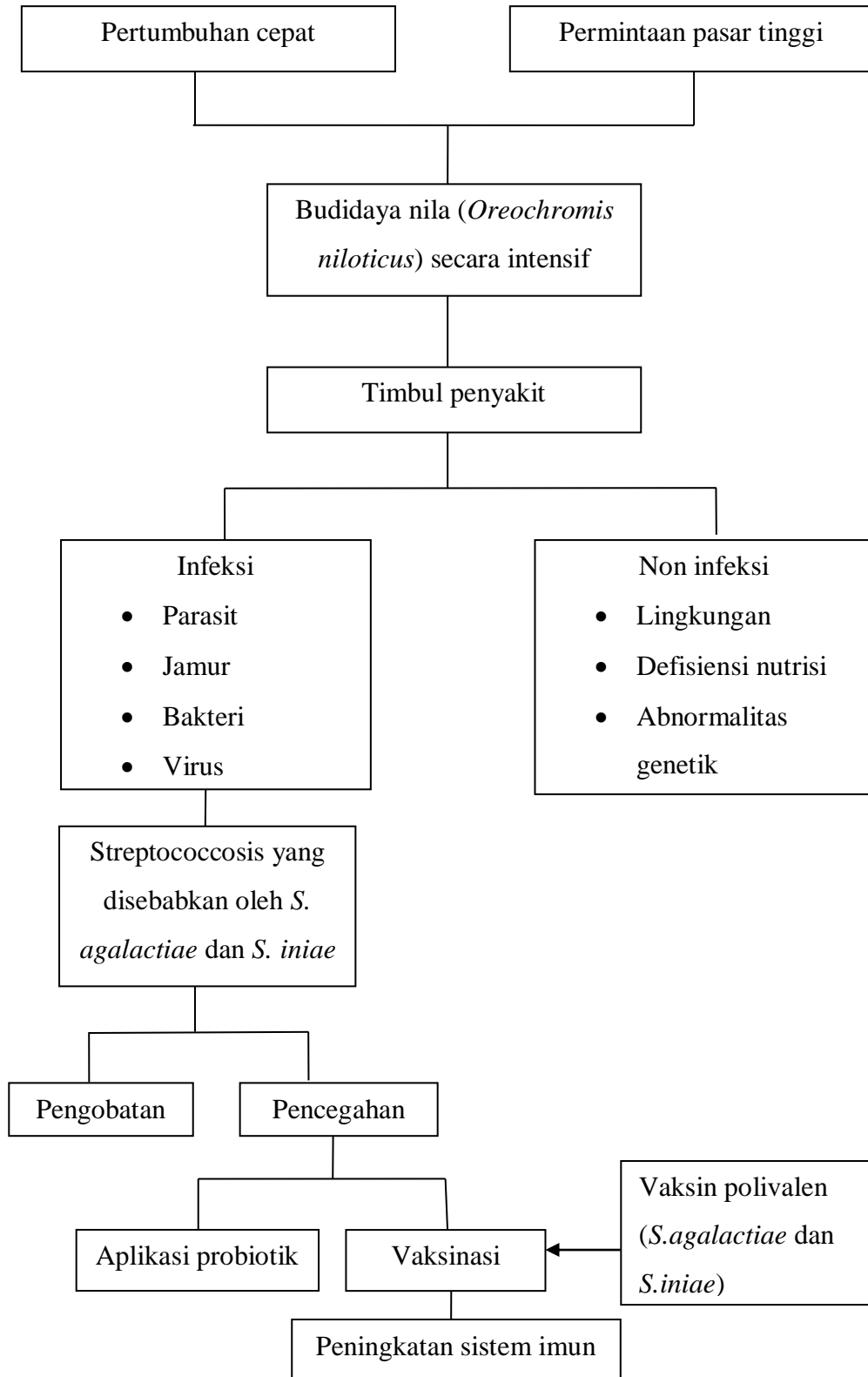
1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat umum dan akademisi tentang pengaruh pemberian vaksin polivalen *Streptococcus* terhadap pencegahan penyakit streptococcosis pada budi daya nila.

1.4 Kerangka Pikir

Ikan merupakan salah satu sumber protein hewani bagi manusia. Salah satu ikan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat adalah ikan nila. Ikan nila banyak dibudidayakan secara intensif oleh pembudi daya karena nila memiliki banyak peminat dikalangan masyarakat dan nila merupakan salah satu jenis ikan yang pertumbuhannya cukup pesat. Akan tetapi, dalam kegiatan budi daya tidak terlepas dari adanya kendala yang dapat menghambat produksi. Salah satu kendala yang sering ditemui dalam kegiatan budi daya adalah munculnya serangan penyakit. Salah satu jenis penyakit yang sering menginfeksi nila budi daya adalah streptococcosis yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus*. Bakteri ini bersifat patogen

dan zoonosis terhadap manusia sehingga dapat membahayakan manusia sebagai konsumen. Dalam menangani permasalahan ini dapat dilakukan upaya preventif seperti vaksinasi. Jenis-jenis bakteri *Streptococcus* yang bersifat zoonosis terhadap manusia yaitu *Streptococcus agalactiae* dan *Streptococcus iniae* yang juga merupakan bakteri utama penyebab penyakit streptococcosis. Dengan pemberian vaksin polivalen dari kedua bakteri tersebut, diharapkan dapat memberi perlindungan sempurna terhadap nilai dari penyakit streptococcosis. Diagram kerangka pikir penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram alir kerangka pikir

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Nila

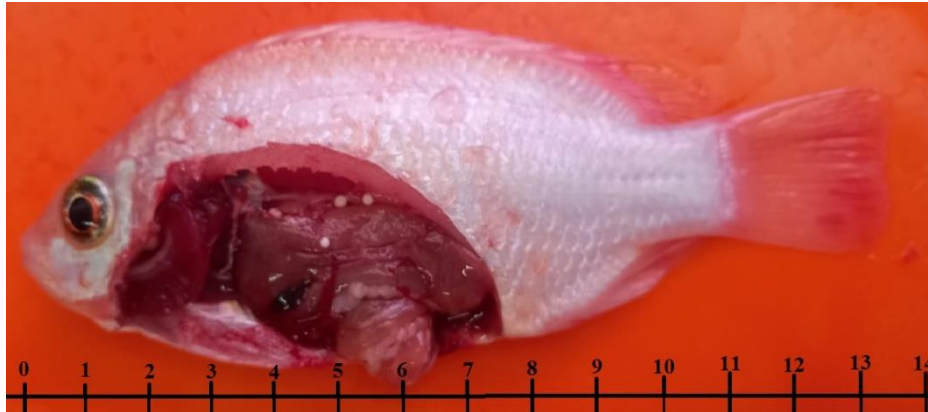
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Ikan nila merupakan salah satu ikan air tawar. Secara biologis klasifikasi ikan nila menurut Froese dan Pauly (2023) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Fillum	: Chordata
Kelas	: Teleostei
Ordo	: Perciformes
Famili	: Cichlidae
Genus	: <i>Oreochromis</i>
Spesies	: <i>O. niloticus</i>

Menurut Lukman *et al.* (2014) nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar dengan bentuk tubuh yang ramping dan memanjang. Tubuh nila memiliki sisik yang berukuran relatif besar. Selain itu, nila memiliki 5 buah sirip yang terdiri dari sirip dorsal, sirip pektoral, sirip ventral, sirip anal, dan sirip caudal. Nila memiliki gurat sisi yang terletak di bagian bawah garis panjang yang berada di atas sirip dada. Ukuran tubuh nila dipengaruhi oleh jenis kelamin, dan umumnya nila jantan memiliki bentuk tubuh yang lebih besar dibandingkan dengan nila betina. Mulut nila terletak terminal dan pada bagian tubuhnya terdapat 10 garis vertikal dan 8 garis horizontal yang ujungnya berwarna kehitaman. Mata

nila sedikit menonjol dengan warna hijau kebiru-biruan pada bagian tepinya (Arifin, 2016). Morfologi tubuh nila dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Ikan nila (*Oreochromis niloticus*)

2.1.2 Habitat

Nila adalah ikan introduksi yang berasal dari Afrika dan Palestina dan tersebar di Amerika Selatan, Amerika Tengah, India Selatan, Sri Lanka, dan danau Kinneret (El-Sayed, 2020). Introduksi nila pertama kali masuk ke Indonesia pada tahun 1969 yang didatangkan dari Taiwan (Rustikawati, 2011). Menurut Francisca *et al.* (2021) ikan nila merupakan salah satu jenis ikan yang memiliki toleransi salinitas cukup luas (*euryhaline*). Nila banyak ditemukan di perairan umum, seperti sungai dan rawa. Berdasarkan SNI 7550:2009 nila dapat hidup dan dibudidayakan pada rentang kualitas air yaitu suhu 25-32° C, DO ≥ 3 mg/l, amonia $< 0,02$ mg/l, dan pH 6,5-8,5. Kondisi suhu air yang rendah dapat menurunkan nafsu makan pada ikan dan dapat menyebabkan ikan mudah terserang penyakit, sedangkan kondisi suhu air yang tinggi dapat meningkatkan resiko stres ikan dan memengaruhi keadaan perairan lainnya, yaitu dapat meningkatkan kadar amonia dan penurunan kadar DO dalam air (Irawan, 2019). Menurut Dahril (2017) kadar oksigen terlarut tidak seimbang pada perairan dapat menyebabkan ikan mengalami stres karena oksigen yang masuk ke dalam otak tidak tercukupi. Turunnya kadar DO pada perairan dapat disebabkan terjadi peningkatan suhu, kekeruhan, dan salinitas (Ernawati,

2016). Menurut Prakoso (2018) turunnya kadar DO pada wadah budi daya juga dapat disebabkan oleh padat tebar yang tinggi.

2.2 Penyakit Bakterial pada Nila

Penyakit pada ikan terdiri dari penyakit infeksi dan non infeksi. Penyakit infeksi pada ikan dapat disebabkan oleh bakteri, virus, jamur, dan parasit. Salah satu penyakit yang terjadi pada nila adalah *motile aeromonas septicemia* (MAS) yang disebabkan oleh *Aeromonas hydrophila*. Penyakit ini umumnya menyerang atau menginfeksi ikan budi daya air tawar dan terkadang juga menyerang ikan payau, dan beberapa ikan laut. Ikan air tawar yang biasanya terinfeksi penyakit ini adalah ikan mas, nila, lele, *striped bass*, dan *largemouth bass* (Ashari *et al.*, 2014). Selain MAS, penyakit bakterial lain yang biasanya ditemukan pada nila adalah streptococcosis yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus*. Penyakit ini adalah penyakit yang bersifat zoonotik dan sering muncul pada sistem budi daya dengan padat tebar tinggi, kualitas air buruk, dan sistem resirkulasi tertutup (Akbar *et al.*, 2013).

2.3 Karakteristik Bakteri *Streptococcus*

Bakteri *Streptococcus* sp. merupakan bakteri patogen yang dapat menyerang ikan air tawar maupun ikan laut. Jenis ikan yang peka dengan streptococcosis di antaranya adalah salmon, tilapia, *mullet*, *golden shiner*, *pinfish*, *eel*, *sea trout*, *sturgeon*, dan *striped bass*. Selain itu, bakteri ini juga dapat ditemukan di beberapa ikan hias seperti *rainbow sharks*, *red tailed*, beberapa cichlidae (*Nimbochromis venustus* dan *Pelvicachromis* sp.), dan beberapa jenis ikan tetra (Akbar *et al.*, 2013). Salah satu spesies *Streptococcus* yang bersifat patogen adalah *Streptococcus agalactiae* (Daenuri *et al.*, 2011). Menurut Abdelsalam *et al.* (2013) setidaknya terdapat 6 spesies bakteri *Streptococcus* berbeda yang berpotensi menjadi patogen pada ikan, di antaranya adalah *Streptococcus iniae*, *S. agalactiae*, *S. parvauberis*, *Lactococcus piscium*, *L. garvieae*, dan *Vagococcus salmoninarum*. Organ-organ dalam yang sering diserang oleh bakteri penyebab streptococcosis adalah

limpa, ginjal, hati, otak, dan menyebar pada usus dan jantung (Gardenia *et al.*, 2011).

Menurut Suhermanto *et al.* (2019) secara morfologi *S. agalactiae* merupakan bakteri Gram positif dengan koloni bakteri berbentuk kokus. *S. agalactiae* memiliki ukuran sel yaitu 0,6-0,8 μm . Menurut Ye *et al.* (2011) pada *blood* agar, *S. agalactiae* akan berwarna putih, memiliki diameter antara 0,5-2,0 μm , dan termasuk ke dalam β hemolitik. Berdasarkan keberadaan hemolisisnya pada *blood* agar, bakteri *Streptococcus* terbagi menjadi α , β , dan γ (Wajima *et al.*, 2022). Menurut Hardi *et al.* (2011) *S. agalactiae* merupakan bakteri yang terbagi menjadi dua tipe, yaitu β hemolitik dan non hemolitik. *Streptococcus* merupakan bakteri yang tidak membentuk spora atau kapsul dan bersifat fakultatif aerob (Akbar *et al.*, 2013).

Infeksi bakteri patogen pada ikan dipengaruhi oleh kondisi perairan. Infeksi bakteri *S. agalactiae* serotipe Ia sangat dipengaruhi oleh suhu dan pH. Hal ini terjadi karena pada kondisi suhu perairan tinggi maka saturasi oksigen perairan menurun sehingga dapat memengaruhi sistem fisiologi ikan. pH air tinggi ataupun rendah dapat menyebabkan kelangsungan hidup nila menurun (Phuoc, 2021). Penularan penyakit *Streptococcus* pada ikan dapat terjadi secara horizontal, yaitu penularan secara langsung antara ikan yang telah terinfeksi dengan ikan yang lain melalui perairan. Selain itu, penularan secara vertikal juga sangat mungkin terjadi melalui induk kepada benihnya.

2.4 Gejala Klinis Streptococcosis

Streptococcosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus*. Streptococcosis dapat menginfeksi nila yang dibudidayakan secara intensif. Ikan dengan penyakit streptococcosis dapat dilihat dari gejala klinisnya, yaitu tulang punggung nila melengkung hingga membentuk huruf C, mata menonjol, adanya peradangan pada otak, anoreksia (Suhermanto *et al.*, 2019). Menurut Supriyadi (2006) secara umum salah satu gejala klinis ikan yang terinfeksi *Streptococcus*

adalah pola berenangya tidak terarah atau berenang berputar-putar. Hal ini disebabkan bakteri tersebut menyerang dan menempatkan diri dalam cairan otak ikan. Selain berenang berputar, gejala klinis lain dari ikan yang terinfeksi bakteri ini adalah terjadinya perubahan pada organ dalam ikan, seperti perubahan warna hati ikan yang memucat dan teksturnya lebih rapuh. Menurut Gardenia (2011) limpa ikan yang terinfeksi penyakit ini ukurannya jadi lebih besar, usus mengandung cairan, permukaan otak berwarna kekuningan dan terdapat banyak bakteri, meningitis akut, dan hemoragi. Gejala klinis lain pada ikan akibat penyakit ini yang paling signifikan adalah septikemia dan meningoencephalitis.

Streptococcosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *S. agalactiae* dan *S. iniae*. Penyakit yang disebabkan oleh *S. iniae* dapat dilihat dari adanya hemoragi pada kulit dan sirip ikan. Selain itu, gejala klinis ikan yang terinfeksi *S. iniae* adalah mata yang lebih menonjol (Lan *et al.*, 2020). Menurut Arham (2018) gejala klinis pada ikan yang ditimbulkan akibat serangan *S. iniae* adalah pembesaran ukuran hati, terdapat edema pada rongga peritoneal, kongesti pada ginjal dan limpa. Adapun pada ikan yang terinfeksi *S. agalactiae* gejala klinis yang dapat diamati adalah ikan kehilangan nafsu makan, bergerak lemah, pembengkakan pada daerah perut, warna kulit menggelap, mengalami hemoragi pada kulit, hati menjadi rapuh, pucat, dan membengkak, serta limpa membengkak (Daenuri *et al.*, 2011).

Menurut Gardenia *et al.* (2011) timbulnya penyakit streptococcosis pada budi daya disebabkan oleh suhu air, padat tebar tinggi, kualitas air, dan penanganan ikan yang buruk. Pada ikan, gejala klinis akibat infeksi bakteri *Streptococcus* muncul mulai dari hari ke-3 sampai hari ke-5 pasca bakteri mulai menginfeksi. Proses infeksi bakteri *Streptococcus* di dalam tubuh ikan nila dimulai dari hari ke-3 sampai hari ke-13 dan dapat dilihat dari distribusi bakteri pada hati, otak, ginjal, dan darah ikan (Aryanto, 2011).

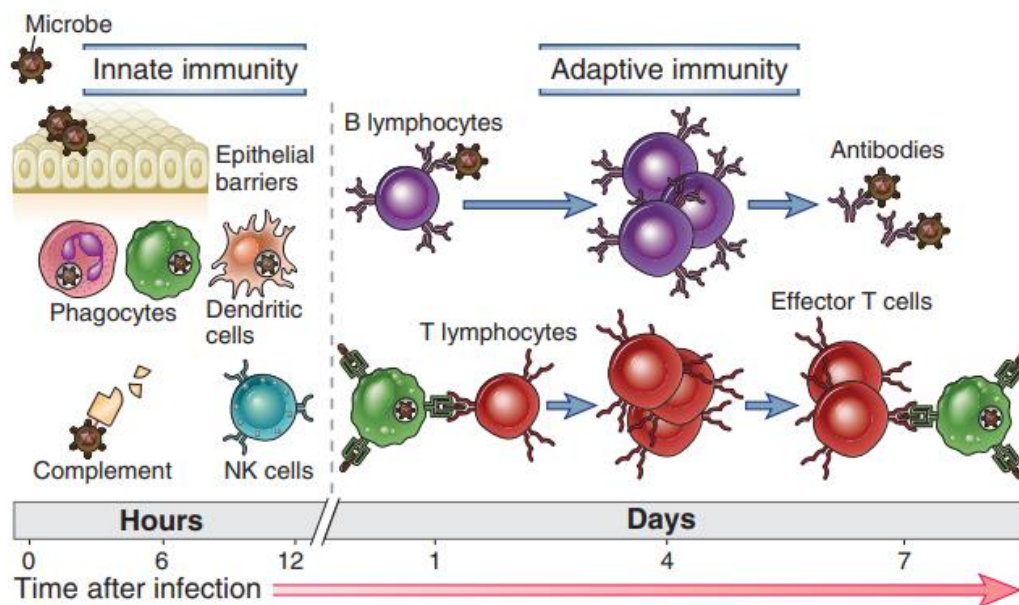
2.5 Sistem Imun

Sistem imun merupakan sistem pertahanan tubuh guna menjaga keseimbangan tubuh. Konsep imunitas dapat diartikan sebagai suatu kemampuan untuk mengenali zat asing yang masuk dalam tubuh. Setelah proses pengenalan zat asing oleh sistem limforetikuler selanjutnya tubuh akan menentukan ada tidaknya tindakan (respon imun) dalam bentuk netralisasi, melenyapkan, atau memasukkan zat asing tersebut dalam proses metabolisme. Zat asing tersebut dinamakan dengan antigen atau imunogen dan proses serta fenomena yang menyertainya disebut respon imun yang menghasilkan suatu zat yang disebut dengan antibodi. Setelah sistem imun terpapar oleh zat asing maka akan terjadi dua respon imun yaitu spesifik dan non-spesifik (Suardana, 2017). Pada ikan jaringan limfoid primer dan sekunder ditemukan dalam timus, ginjal, dan limpa. Selain itu, sel sistem imun juga ditemukan di kulit dan membran mukosa. Sistem imun nonspesifik merupakan sistem imun yang akan selalu ada pada tubuh ikan dan tidak memiliki target mikroba tertentu. Dalam sistem imun nonspesifik pada ikan, terdapat pertahanan fisik, mekanik, dan kimiawi yang terjadi pada kulit, sisik, mukus, dan insang. Dan pertahanan kedua sistem imun nonspesifik yaitu pertahanan seluler yang melibatkan sel fagosit, makrofag, dan sel *natural killer* (NK). Adapun sistem imun spesifik adalah sistem imun yang akan muncul ketika sudah mendapatkan rangsangan dari luar (Setyawan *et al.*, 2019).

Secara fisiologis, sistem imun pada ikan memiliki kemiripan dengan sistem imun yang dimiliki oleh vertebrata tingkat tinggi. Akan tetapi organ pembentuk, proses pembentukan, dan produk imun ikan dan vertebrata berbeda. Sama halnya dengan vertebrata, sistem imun pada ikan juga terbagi menjadi dua, yaitu sistem imun nonspesifik (*innate immunity*) dan sistem imun spesifik (*adaptive immunity*). Sel utama yang bekerja dalam sistem imun spesifik humoral adalah sel B atau limfosit B. Antibodi merupakan protein yang terbentuk sebagai bentuk respon terhadap antigen yang masuk ke dalam tubuh. Antibodi pada ikan dapat terbentuk akibat adanya rangsangan benda asing pada sel B yang kemudian berproliferasi, berdiferensiasi, dan berkembang menjadi sel plasma, sehingga sel plasma yang terbentuk memproduksi antibodi. Pada ikan, antibodi yang lepas dapat ditemukan dalam

serum (Nugroho *et al.*, 2018). Antibodi bekerja dengan cara mengikat antibodi dan menghantarkannya ke sistem efektor pemusnahan. Antibodi juga dapat disebut sebagai imunoglobulin, pada mamalia terdapat 5 isotipe immunoglobulin yaitu IgM, IgD, IgG, IgA, dan IgE. Pada vetebrata, khususnya teleostei, terdapat 3 isotipe, yaitu IgM, IgD, dan IgT atau Z. Menurut Setyawan *et al.* (2019) struktur antibodi tersusun atas dua rantai berat dan dua rantai ringan. Sel utama yang bekerja pada sistem imun spesifik selular adalah sel T. Fungsi utama sel T adalah untuk pertahanan terhadap bakteri intraseluler, virus, jamur, dan parasit. Sel T pada tubuh ikan berproliferasi di timus dan hanya tersisa sebanyak 5-10% yang hidup dan matang akan menuju sirkulasi. Sel T dalam tubuh akan mengaktifkan sel makrofag pada ikan.

Pada sistem imun spesifik, terdapat tiga macam protein yang masuk dalam keluarga gen immunoglobulin yang bertugas mengikat antigen yaitu MHC (*major histocompatibility complex*), reseptor sel T, dan antibodi. Pada ikan, mekanisme terbentuknya antibodi diawali dari adanya rangsangan dari luar berupa antigen. Peptida bakteri kemudian diikat oleh molekul MHC dan dipresentasikan oleh *antigen presenting cells* (APC) yang berupa sel dendrit, makrofag, dan sel B (Setyawan *et al.*, 2019). APCs akan mempresentasikan epitop yang ada di sel T helper melalui MHC II. Sel T menerima epitop tersebut dengan menggunakan T cell reseptor dan selanjutnya sel T mensekresi sitokin berupa interleukin (IL-2, IL-4, dan IL-5). Sitokin yang dihasilkan akan diterima oleh sel limfosit B yang kemudian berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel plasma dan sel B memori. Masing-masing sel yang telah terbentuk memiliki fungsi yang berbeda-beda, dimana sel plasma bertugas untuk mensintesis antibodi guna memusnahkan antigen sasaran. Sel B memori akan mengingat epitop yang pernah diterima dengan membentuk reseptor khusus yang spesifik mengenali epitop tersebut sehingga ketika epitop yang sama masuk dalam tubuh sel B akan dengan segera mengenali dan merespon (Ode, 2013). Proses terbentuknya antibodi pada sistem imun spesifik dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Jalur pemrosesan dan presentasi antigen

Sumber: Abbas *et al.* (2012)

2.6 Melanomakrofag Center (MMC) pada Ikan

Melanomakrofag center (MMC) adalah sel yang secara morfologi berbentuk bulat padat dengan jumlah pigmentasi yang beragam. Pigmen gelap di melanomakrofag disebabkan oleh faktor endogen, yaitu fagositosis sel terutama eritrosit dan ekso-gen, yaitu kandungan lipofuscin, melanin, dan hemosiderin sehingga melano makrofag dapat dibedakan dan diamati secara histologi (Steinel *et al.*, 2017). Menurut Agius *et al.* (2003) pigmen yang paling melimpah di melanomakrofag adalah lipofuscin, diikuti dengan melanin, sedangkan hemosiderin adalah pigmen yang muncul dalam jumlah besar pada keadaan tertentu seperti anemia hemolitik. Pada ikan, MMC dapat ditemukan di organ-organ seperti limpa, ginjal, hati, dan terkadang juga dapat ditemukan pada insang, submukosa usus, pancreas, otak, dan gonad. Melanomakrofag center umumnya dapat ditemui pada ikan yang sehat dan

jumlahnya mengalami peningkatan pada kondisi ikan patologis, seperti ikan yang mengalami stres (Pratiwi *et al.*, 2019).

Menurut Steinel *et al.* (2017) 2 fungsi melanomakrofag center dalam tubuh yaitu nonimunologi dan imunologi. Fungsi MMC dalam nonimunologi adalah sebagai pembersih dan penyimpan bahan beracun dan tidak dapat dicerna, sedangkan dalam imunologi adalah sebagai fagositosis sel dan bahan-bahan infeksius. MMC pada limpa bekerja mengais patogen yang masuk melalui darah, sehingga pada saat benda asing dimasukkan dalam tubuh maka MMC akan menghilangkan benda asing tersebut. Fungsi makrofag sebagai sel dapat aktif ketika telah memperoleh beragam rangsangan sehingga dapat menangkap, memakan dan mencerna antigen, mikroorganisme, partikel tidak larut, dan sel pejamu rusak atau mati. Vaksin yang merupakan antigen dapat mengaktivasi makrofag untuk melakukan fungsinya memfagosit antigen sehingga jumlah makrofag pada ikan yang divaksinasi akan meningkat. Tahapan pembentukan makrofag diawali dari proses hematopoiesis pada sumsum tulang dan selanjutnya sel progenitor monosit berdiferensiasi menjadi premonosit yang selanjutnya masuk ke dalam sirkulasi dan pada akhirnya berdiferensiasi menjadi monosit *mature*. Monosit yang telah matang selanjutnya bermigrasi ke beragam jaringan dan kemudian berdiferensiasi menjadi makrofag jaringan spesifik.

2.7 Vaksinasi pada Ikan

Vaksinasi adalah suatu pencegahan terhadap penyakit dengan cara meningkatkan sistem imun tubuh ikan. Kegiatan vaksinasi dilakukan dengan harapan mampu menekan mortalitas pada ikan tanpa memberikan efek terhadap ikan, lingkungan, dan konsumen sehingga dapat meningkatkan hasil produksi budi daya. Vaksinasi pada ikan dapat dilakukan pada ikan ketika telah berusia minimal 1 minggu. Pada usia ikan belum memasuki 1 minggu, organ-organ pada tubuh ikan yang berperan dalam sistem imun belum terbentuk. Proses pemberian vaksin pada ikan dapat dilakukan dengan tiga metode, yaitu dengan menginjeksikan vaksin pada ikan, perendaman, dan dilakukan melalui oral (Setyawan *et al.*, 2012). Pemberian vaksin

dengan cara direndam lebih mudah dilakukan pada ikan berukuran kecil dalam skala besar, biaya yang dibutuhkan relatif murah, dan ikan yang divaksinasi minim mengalami stres. Vaksinasi pada ikan secara oral melalui pakan biasanya digunakan untuk vaksinasi *booster* dan dapat diaplikasikan pada ikan yang dibudidayakan pada kolam budi daya. Adapun metode vaksinasi yang dilakukan dengan cara injeksi umumnya dilakukan pada calon indukan dan induk agar benih yang dihasilkan memperoleh imunitas yang diturunkan dari induknya (Lusiastuti, 2022). Proses infiltrasi vaksin pada ikan dengan metode perendaman terjadi melalui kulit dan air yang tertelan oleh ikan ketika proses respirasi (Sukenda *et al.*, 2014). Mekanisme kerja vaksinasi pada ikan adalah dengan memasukkan vaksin ke dalam tubuh ikan dan akan terbentuk antibodi pada ikan sehingga saat ikan terinfeksi mikroorganisme patogen tertentu, ikan tidak akan mudah terinfeksi karena telah memiliki antibodi (Arham, 2018). Menurut Faisal *et al.* (2017) ketika ikan telah divaksinasi secara efektif kembali terpapar antigen yang sama maka respon imun sekunder ikan akan menghilangkan infeksi pada tahap awal.

Menurut Novianti (2020) jenis-jenis vaksin berdasarkan sediaan pembentuknya terbagi menjadi vaksin *attenuated* virus, vaksin inaktivasi, vaksin subunit, vaksin toksoid, vaksin DNA, dan vaksin rekombinan. Vaksin *attenuated* virus adalah vaksin yang tersusun atas mikroorganisme hidup yang telah dilemahkan. Vaksin inaktivasi adalah vaksin yang tersusun dari mikroorganisme yang dimatikan. Sama halnya dengan vaksin inaktivasi, vaksin subunit merupakan vaksin yang tidak mengandung komponen patogen hidup, akan tetapi komponen patogen yang digunakan tidak utuh seperti halnya vaksin inaktivasi. Vaksin toksoid terbuat dari toksin yang sudah tidak berbahaya lagi akan tetapi mampu merangsang imunitas guna melawan toksin yang sama. Vaksin rekombinan merupakan vaksin yang dibuat dengan menggunakan teknologi *cloning* DNA rekombinan, sedangkan vaksin DNA merupakan vaksin yang dibuat dengan mentransfer DNA plasmid secara langsung ke dalam jaringan tubuh tanpa hewan vektor. Cara kerja dari vaksin DNA adalah dengan merangsang respon imun humoral dengan cara membentuk antibodi dan merangsang sistem imun selular dengan cara mengaktifasi sel T (Sutanti *et al.*, 2016).

Pasca vaksinasi, ikan akan membaca vaksin sebagai antigen dan kemudian tubuh ikan akan memberi respon berupa pembentukan antibodi dan leukosit. Sistem imun pada ikan akan terbentuk setelah vaksin sebagai antigen masuk ke dalam tubuh dan difagosit oleh makrofag dan neutrofil. Komponen antigen yang telah difagosit diikat oleh limfosit T dan informasinya akan ke limfosit B dan kemudian terbentuklah antibodi spesifik sesuai dengan antigen yang masuk. Antibodi yang terbentuk akan melumpuhkan patogen dan mengurangi toksisitasnya sehingga mudah terfagosit. Umumnya antibodi pada ikan akan terbentuk pada minggu ke-2 pasca vaksinasi (Sukenda, 2015).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan pada 28 Agustus sampai 2 Oktober 2022, yang bertempat di Laboratorium Bioassay, Laboratorium Patologi, dan Laboratorium Mikrobiologi 1, Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang.

3.2 Alat dan Bahan

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

Tabel 1. Alat-alat yang digunakan pada penelitian

No	Nama Alat	Fungsi
1.	Alat bedah	Alat untuk membedah ikan .
3.	Injektor	Alat yang digunakan untuk memvaksinasi ikan.
4.	<i>Staining jar</i>	Wadah untuk larutan pada proses pewarnaan preparat limpa.
5.	<i>Staining rack</i>	Alat untuk meletakkan preparat limpa pada proses pewarnaan.
6.	<i>Beaker glass</i>	Wadah untuk akuades.
8.	Timbangan	Alat untuk mengukur bobot ikan.
9.	Mikropipet	Alat untuk mengambil cairan pada proses titer antibodi.
10.	<i>Basemolds</i>	Alat untuk mencetak parafin pada proses pembuatan preparat limpa.
11.	Kamera optilab	Alat bantu yang menghubungkan mikroskop dengan komputer.
12.	Mikroskop	Alat bantu melihat preparat histopatologi limpa.

Tabel 1. Alat-alat yang digunakan pada penelitian (lanjutan)

No	Nama Alat	Fungsi
13.	Sentrifus	Alat untuk memisahkan antara sel darah dengan serum darah.
14.	Lemari asam	Alat untuk pewarnaan.
15.	<i>Floating bath</i>	Alat untuk penempelan jaringan pada kaca preparat.
16.	<i>Hot plate</i>	Alat untuk melelehkan parafin.
17.	<i>Embedding console system</i>	Alat untuk mengeluarkan parafin.
18.	<i>Mikrotome</i>	Alat untuk memotong blok organ menjadi lembaran.
19.	<i>Automatic tissue processors</i>	Alat otomatis untuk proses dehidrasi, pembersihan, dan infiltrasi pada jaringan limpa.
20.	Peralatan aerasi	Alat untuk mensuplai oksigen pada air.
21.	Bak fiber	Wadah pemeliharaan nila.
22.	Peralatan siphon	Alat bantu untuk menyiphon air.
23.	Termometer	Alat untuk mengukur suhu air.
24.	pH meter	Alat untuk mengukur pH air pemeliharaan.
25.	DO meter	Alat untuk mengukur oksigen terlarut media pemeliharaan.
26.	<i>Cover slipper</i>	Alat untuk menutup kaca preparat.

Tabel 2. Bahan yang digunakan untuk penelitian

No	Nama Bahan	Fungsi
1.	Ikan nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Sebagai ikan uji.
2.	Vaksin polivalen <i>Streptococcus</i> (Sa-Ia, Sa-Ib, Sa-III, dan Si)	Sebagai vaksin untuk ikan uji.
3.	Pakan Galaxy GL-Multi protein 30-32%	Sebagai sumber energi ikan uji.
4.	Serum darah	Untuk pengujian titer antibodi.
5.	Minyak cengkeh	Untuk membusikan ikan pada saat vaksinasi.
6.	Larutan fisiologis 0,85% NaCl	Untuk disuntikan pada ikan kontrol.
7.	Antigen <i>Streptococcus agalactiae</i> dan <i>Streptococcus iniae</i>	Untuk pengujian titer antibodi.
8.	Etanol 50%, 80%, 95%, dan 100%,	Untuk menghilangkan air pada jaringan limpa.
10.	Larutan buffer formalin	Bahan untuk mencegah terjadinya pembusukan pada jaringan.
11.	Xylol	Larutan yang digunakan untuk menghilangkan alkohol pada tahap pewarnaan dan dehidrasi.
12.	Hematoksilin dan eosin	Larutan untuk pewarnaan.
14.	<i>Phosphate buffer saline</i> (PBS)	Larutan untuk titer antibodi.
15.	<i>Sterilin v-bottom 96-well plates</i>	Digunakan untuk titer antibodi.

3.3 Rancangan Penelitian

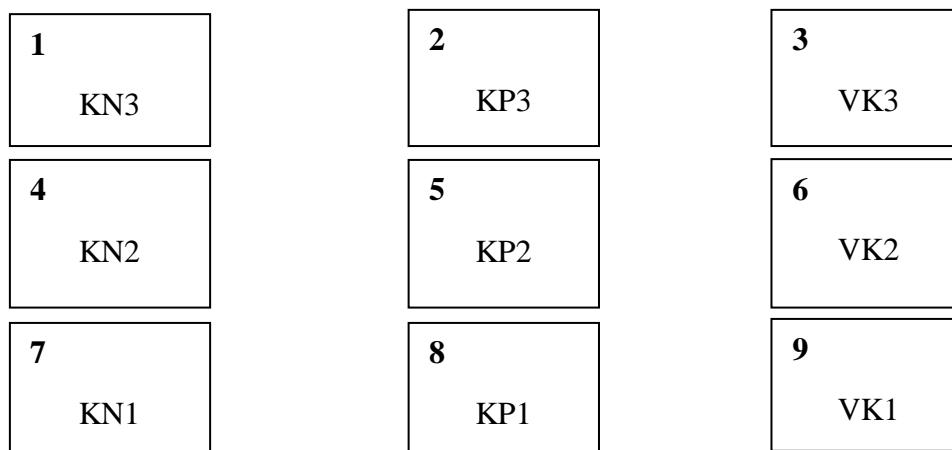
Metode penelitian yang digunakan adalah dengan metode eksperimental. Metode penelitian eksperimental merupakan metode penelitian yang dilakukan dengan melaksanakan percobaan atau menerapkan satu atau lebih perlakuan pada penelitian dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh perlakuan yang diberikan terhadap kelompok uji (Masturoh *et al.*, 2018). Terdapat 2 tahap pada penelitian ini, yaitu tahap imunogenisitas dan keamanan. Tahap imunogenisitas terdiri dari 3 perlakuan dan dengan 3 kali ulangan, sedangkan keamanan hanya terdiri dari 2 perlakuan.

3.3.1 Imunogenisitas

Perlakuan 1 : Tanpa pemberian vaksin (kontrol negatif)

Perlakuan 2 : Pemberian larutan fisiologis 0,1 ml (kontrol positif)

Perlakuan 3 : Pemberian vaksin *Streptococcus* 0,1 ml



Gambar 4. Denah penempatan wadah penelitian imunogenisitas

Keterangan:

KN : Perlakuan kontrol negatif (tanpa penyuntikan)

KP : Perlakuan kontrol positif (penyuntikan dengan larfis 0,1 ml)

VK : Perlakuan vaksinasi (penyuntikan dengan vaksin 0,1 ml)

1,2,3 : Ulangan

1-9 : Nomor plot

3.3.2. Keamanan

Susunan penempatan bak fiber yang digunakan dalam pemeliharaan selama penelitian adalah sebagai berikut:



Gambar 5. Denah penempatan wadah penelitian keamanan

Keterangan :

KN : Perlakuan kontrol negatif (tanpa penyuntikan)

VKD : Perlakuan keamanan (penyuntikan dengan vaksin 0,2 ml)

3.4 Persiapan Penelitian

3.4.1 Persiapan Wadah

Dalam penelitian ini, wadah yang digunakan untuk memelihara ikan adalah bak fiber sebanyak 10 buah dengan ukuran 1.000 liter yang dilengkapi dengan sistem intalasi air dan aerasi. Sebelum digunakan, bak fiber terlebih dahulu dicuci menggunakan detergen dan kemudian dibilas hingga bersih yang selanjutnya bak fiber dikeringkan selama satu hari. Setelah kering, bak fiber yang digunakan diisi dengan air tawar sebanyak 300 liter dan kemudian pada setiap bak fiber yang akan digunakan dipasang selang aerasi dan batu aerasi.

3.4.2 Persiapan Ikan

Ikan uji pada penelitian ini adalah ikan nila dengan ukuran $12,07 \pm 0,40$ cm dengan bobot $31,72 \pm 3,63$ g/ekor. Nila yang digunakan berasal dari Balai Pengujian Kesehatan Ikan Dan Lingkungan (BPKIL) Serang. Sebelum dimasukkan pada bak

fiber, nila terlebih dahulu di-*screening* berdasarkan ukuran dan kualitasnya, salah satunya yaitu terbebas dari bakteri *Streptococcus*. Setelah dilakukannya *screening*, selanjutnya ikan nila dimasukkan ke dalam bak fiber, masing-masing 30 ekor.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Vaksinasi

Vaksinasi ikan uji pada penelitian ini dilakukan dengan menginjeksikan vaksin pada ikan melalui intraperitoneal (IP) menggunakan *injection*. Dosis vaksin yang diberikan pada ikan uji adalah 0,1 ml/ekor untuk tahap imunogenisitas dan 0,2 ml/ekor untuk tahap keamanan. Pada perlakuan kontrol positif nila diinjeksikan dengan larutan fisiologis dengan dosis 0,1 ml/ekor, sedangkan untuk kontrol negatif tidak diinjeksikan vaksin ataupun larutan fisiologis. Sebelum dilakukan vaksinasi, ikan nila terlebih dahulu dibius dengan cara menambahkan minyak cengkeh ke dalam air 20 liter pada bak yang telah diaerasi. Setelah ikan nila terlihat lemas selanjutnya dilakukan proses vaksinasi.

3.5.2 Pemeliharaan Ikan Pasca Vaksinasi

Pasca vaksinasi, ikan nila dipelihara tanpa diberi tambahan perlakuan apapun. Ikan nila hanya dipelihara selama 35 hari dengan diberi pakan komersil menggunakan metode *ad libitum* dengan berat pakan yang diberikan yaitu 4% per bobot ikan. Frekuensi pemberian pakan pada ikan nila dilakukan dua kali sehari yaitu pada pagi dan sore hari. Selama pemeliharaan, dilakukan penyiponan pada air pemeliharaan setiap hari guna mengurangi kadar amonia pada air pemeliharaan. Kegiatan ini dilakukan setelah pengecekan kualitas air fisik pada pagi hari dan sebelum ikan nila diberi pakan.

3.5.3 Preparasi Serum Ikan

Ikan uji sebanyak 5 ekor/bak perlakuan diambil darahnya melalui vena caudalis menggunakan spuit 1 ml dan kemudian dipindahkan pada mikrotube. Pengambilan darah ikan ini dilakukan satu kali dalam seminggu pada minggu ke-0 sampai 5. Darah yang telah diambil kemudian dimasukkan ke dalam mikrotube steril dengan sistem *pooling*. Pengambilan darah nila dilakukan untuk mendapatkan serum darah sehingga dalam pengambilan darah tidak ditambahkan antikoagulan. Darah yang telah diambil lalu disimpan pada suhu ruang selama kurang lebih 2 jam dan kemudian disimpan dalam refrigerator hingga serum keluar. Setelah serum darah keluar, dilakukan *centrifuge* pada mikrotube yang berisi darah dan serum tersebut dengan kecepatan 15.000 g selama 10 menit. Serum darah yang sudah terpisah dari darah umumnya akan berada di permukaan mikrotube dan selanjutnya serum darah dipindahkan ke dalam mikrotube steril.

3.6 Pengamatan Penelitian

3.6.1 Imunogenisitas

Pengamatan pada imunogenisitas terdiri dari dua parameter utama yaitu pengamatan titer antibodi dan perhitungan melanomakrofag center limpa nila.

3.6.1.1 Titer Antibodi

Antibodi merupakan hasil dari respon sistem imun humoral. Pemeriksaan titer antibodi bertujuan untuk mengetahui kemampuan protein pada serum darah yang telah mengandung antibodi untuk menghancurkan antigen yang masuk ke dalam tubuh (Prasetyo, 2021). Peningkatan titer antibodi dapat dilihat dari terbentuknya aglutinasi pada uji titer antibodi. Menurut Bahar *et al.* (2017) aglutinasi ditandai dengan terbentuknya titik yang menyebar pada permukaan larutan dalam sumuran *microplate*, akan tetapi bila terdapat titik yang tidak menyebar pada dasar sumuran menunjukkan bahwa tidak terbentuk aglutinasi.

Pengujian titer antibodi yang dilakukan mengacu pada metode yang dilakukan oleh Setyawan *et al.* (2012) dengan adanya sedikit modifikasi. Dalam pengujian titer antibodi digunakan *microplate* dengan jumlah sumuran yaitu 96 sumuran dengan rincian 12 sumuran vertikal dan 8 sumuran horizontal. Antigen yang digunakan untuk pengujian titer antibodi ada 4 jenis yang berbeda (Sa-Ia, Sa-Ib, Sa-III, dan Si) dan masing-masing antibodi diuji secara terpisah pada *microplate* yang berbeda. Pengujian titer antibodi dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. PBS dimasukkan ke dalam sumuran nomor 2 -12 pada *microplate* masing-masing sebanyak 25 μ l.
2. Serum ditambahkan ke dalam sumuran nomor 1 dan 2 pada *microplate* masing-masing sebanyak 25 μ l.
3. Serum dilakukan pengenceran berseri dimulai dari sumuran nomor 2 sampai dengan 11 pada *microplate*. Pada sumuran nomor 12 tidak dilakukan pengenceran karena sumuran nomor 12 digunakan sebagai kontrol negatif.
4. Campuran larutan serum dan PBS pada *microplate* ditambahkan antigen (Sa-Ia, Sa-Ib, Sa-III, dan Si) masing-masing sebanyak 25 μ l.
5. Campuran larutan antigen, antibodi, dan PBS yang ada pada sumuran *microplate* dihomogenkan dengan cara menggoyangkan *microplate* secara perlahan selama 1 menit.
6. *Microplate* selanjutnya diinkubasi pada suhu 20°C selama 1 jam dan kemudian disimpan dalam refrigerator 4°C selama 24 jam.
7. Pengamatan dilakukan dengan melihat reaksi aglutinasi di seluruh sumuran. Reaksi aglutinasi dapat dilihat dengan adanya gumpalan yang menyerupai awan putih.

3.6.1.2 Melanomakrofag Center (MMC) Limpa

Pengamatan melanomakrofag center (MMC) pada penelitian ini berfokus pada organ limpa ikan nila dengan cara mengamati preparat histopatologi limpa menggunakan mikroskop dengan pembesaran 10 kali pada 5 lapang pandang berbeda

(kanan, kiri, atas, bawah, dan tengah). Selanjutnya dilakukan perhitungan densitas MMC dengan menggunakan software Image J (Dang, 2020).

3.6.2 Keamanan

Keamanan nila yang telah divaksin diamati dengan melakukan pengujian histopatologi limpa nila, pertumbuhan bobot dan panjang mutlak nila, dan perhitungan nilai *survival rate* nila.

3.6.2.1 Histopatologi Limpa

Pengamatan gambaran histopatologi nila pada penelitian ini berfokus pada organ limpa ikan nila. Gambaran histopatologi limpa nila diamati dengan mikroskop dimulai dari pembesaran lemah dan dilanjutkan pembesaran kuat guna mengamati perubahan jaringan pada limpa nila. Proses pembuatan preparat histopatologi untuk parameter histopatologi dan MMC dilakukan dengan langkah berikut ini.

a. Nekropsi

Nekropsi merupakan kegiatan pembedahan ikan yang dilakukan dengan menggunakan alat bedah. Dalam pembuatan preparat histologi ikan uji dilakukan nekropsi dan diambil organ limpa dari ikan nila.

b. Fiksasi dan Preparasi

Organ target yaitu limpa direndam dalam larutan fiksasi berupa larutan buffer formalin 10% selama 24 jam. Setelah direndam selama 24 jam, dilakukan preparasi organ dengan cara memotong limpa dengan ketebalan 0,5 -1 cm. Potongan limpa nila yang telah terfiksasi kemudian diletakkan pada *cassette* untuk selanjutnya dilakukan *dehidrasi*, *clearing*, dan *infiltrasi*.

c. Dehidration, Clearing, dan Infiltrasi

Tahapan *dehidrasi*, *clearing*, dan *infiltrasi* dilakukan di dalam mesin *Automatic Tissue Processor*. Proses pengeluaran cairan yang berada di dalam sel disebut

dengan proses *dehidrasi* yang bertujuan untuk menjadikan jaringan lebih keras. *Dehidrasi* dilakukan dengan cara memasukkan larutan alkohol ke dalam jaringan. Adapun proses *clearing* merupakan proses pembersihan alkohol dari sel dengan menggunakan larutan xylol. Tahapan terakhir pada mesin *Automatic Tissue Processor* adalah *infiltrasi*, yaitu proses penyusupan larutan parafin ke dalam sel yang sebelumnya sudah di-*clearing*. Proses *dehidrasi*, *clearing*, dan *infiltrasi* dilakukan dengan cara memasukkan sampel ke dalam mesin *Automatic Tissue Processor* selama 18 jam.

d. Blocking

Proses bloking limpa dilakukan pada mesin *embedding console system* dengan tujuan membuat blok jaringan dengan cara menambahkan parafin pada *basemold*. Setelah parafin beku selanjutnya hasil blokingan tersebut disimpan dalam *freezer* selama 15 menit untuk selanjutnya dilakukan *trimming*.

e. Trimming dan Slicing

Trimming adalah proses penipisan blok parafin yang sudah terbentuk hingga limpa yang di-*slicing* terlihat. Tujuan dilakukannya proses *trimming* adalah agar mempermudah dalam proses *slicing*, sedangkan *slicing* adalah proses pengirisan limpa menjadi lembaran-lembaran. Proses *trimming* dan *slicing* dilakukan dengan menggunakan alat mikrotom. *Slicing* dilakukan dengan cara memotong blok parafin beku dengan ketebalan 4-5 μm .

f. Deparafinisasi

Proses deparafinasi dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan parafin pada jaringan setelah proses *blocking*. Deparafinisasi dilakukan dengan cara meletakkan kaca preparat pada *hotplate* dengan suhu 62°C selama beberapa menit hingga parafin mencair. Setelah parafin pada kaca preparat mencair, selanjutnya dimasukkan pada larutan xylol selama 5 menit.

g. Staining

Staining merupakan tahapan pewarnaan pada histologi dengan menggunakan pewarna hematoxilin eosin dan proses pewarnaan ini dilakukan di dalam lemari asam. Pewarnaan ini dilakukan dengan menggunakan larutan hematoxilin yang dapat mewarnai nukleus sehingga berwarna ungu dan eosin yang mewarnai sitoplasma sehingga berwarna merah muda. Setelah preparat dideparafinisasi, kaca preparat disusun terlebih dahulu pada *staining rack* sebanyak 12 kaca preparat kemudian dilakukan proses pewarnaan.

Tahapan pewarnaan preparat dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- a. Setelah dilakukan proses deparafinisasi pada *hotplate*, kaca preparat direndam pada larutan xylol 2 tingkat.
- b. Selanjutnya kaca preparat pada *staining rack* dicelupkan pada alkohol absolut, alkohol 95%, alkohol 80%, dan alkohol 50%. Pada tahap ini pencelupan kaca preparat dilakukan pada alkohol yang bertingkat.
- c. Sebelum proses pewarnaan menggunakan hematoxilin, kaca preparat dicelupkan pada akuades.
- d. Kaca preparat direndam pada larutan hematoxilin dan dilanjutkan dengan direndam pada air mengalir.
- e. Proses selanjutnya perendaman kaca preparat ke dalam larutan Scott's dan dilanjutkan dengan pewarnaan jaringan dan sel menggunakan larutan eosin.
- f. Tahap selanjutnya adalah proses dehidrasi menggunakan larutan alkohol 95% dan absolut bertingkat dengan teknik celup. Tahap terakhir pada proses pewarnaan adalah pencelupan kaca preparat pada larutan xylol bertingkat.
- g. Setelah selesai melakukan proses *staining*, dilanjutkan dengan proses *mounting* kaca preparat dengan kaca penutup.

h. Mounting

Mounting merupakan proses penempelan jaringan. Terdapat dua proses penempelan pada teknik histologi yaitu penempelan jaringan yang sudah dipotong pada kaca objek yang dilakukan di dalam *waterbath* dengan suhu 45°C dan yang kedua adalah proses penempelan kaca preparat dengan *coverglass* dengan entellan.

3.6.2.2 Pertumbuhan Bobot Mutlak

Menurut Muqlan *et al.* (2017) pertumbuhan bobot mutlak dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$W_m = W_t - W_0$$

Keterangan : W_m = Pertumbuhan bobot mutlak (gram)

W_t = Bobot biomassa akhir ikan (gram)

W_0 = Bobot biomassa awal ikan (gram)

Menurut Muqlan *et al.* (2017) pertumbuhan panjang mutlak dihitung berdasarkan persamaan sebagai berikut:

$$P_m = L_t - L_0$$

Keterangan : P_m = Pertambahan panjang mutlak (cm)

L_t = Panjang rata-rata akhir (cm)

L_0 = Panjang rata-rata awal (cm)

3.6.2.3 Survival Rate (SR)

Survival rate (SR) merupakan presentase dari jumlah hewan uji yang hidup pada akhir penelitian dengan jumlah hewan uji pada awal penelitian, yang dihitung dengan persamaan Muqlan *et al.* (2017).

$$SR = \frac{N_t}{N_0} \times 100\%$$

Keterangan : SR = *Survival rate* (%)

N_t = Jumlah ikan di akhir penelitian (ekor)

N_0 = Jumlah ikan awal penelitian (ekor)

3.6.3 Parameter Kualitas Air

Pengukuran kualitas air dilakukan setiap hari dimana pengukuran yang dilakukan adalah pengukuran pH, suhu, dan oksigen terlarut (DO) dengan menggunakan termometer, pH meter, dan DO meter. Adapun pengukuran kualitas air kimia diamati seminggu sekali yang meliputi pengamatan amonia dan H₂S. Pengecekan kualitas air kimia dilakukan di Laboratorium Kualitas Air.

3.7 Analisis Data

Data yang telah diperoleh dari pengujian titer antibodi, pertumbuhan bobot mutlak, dan pertumbuhan panjang mutlak dianalisis dengan uji statistik nonparametrik Kruskal-Wallis. Adapun parameter melanomakrofag center (MMC), *survival rate* (SR), histopatologi limpa, dan kualitas air dianalisis secara deskriptif.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Vaksin polivalen *Streptococcus* dosis 0,1 ml/ekor bersifat immunogenik bagi nila yang ditandai dengan terbentuknya antibodi 32% dan berdasarkan pengamatan melanomakrofag center, penyerapan vaksin telah terjadi dimulai dari hari ke-2 pasca vaksinasi.
2. Pemberian vaksin polivalen *Streptococcus* dengan dosis 0,2 ml/ekor aman bagi nila dengan bukti bahwa pada pertumbuhan bobot dan panjang mutlak nila tidak berbeda nyata antar perlakuan. Selain itu, nilai *survival rate* pada akhir penelitian mencapai 100% dan pada pengamatan profil histopatologi tidak ditemukan perbedaan abnormalitas antar perlakuan.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, vaksin polivalen *Streptococcus* dapat diaplikasikan pada budi daya nila dengan dosis 0,1 ml/ekor hingga 0,2 ml/ekor.

Selain itu, saran tambahan yang dapat disampaikan adalah perlu dilakukan pengamatan lanjutan berupa pengamatan profil darah, histopatologi organ-organ lain pada nila, pengaruh penambahan booster, dan uji tantang.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. 2012. *Celullar and Molecular Immunology*. Philadelphia. Amerika. 545 hlm.
- Abdelsalam, M., Asheg, A., & Eissa, A. E. 2013. *Streptococcus dysgalactiae*: An emerging pathogen fishes and mammals. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*. 1: 1-6.
- Aditya, I. W., & Arimbi. 2017. Efektivitas perendaman ekstrak *Spirulina platensis* sebagai imunostimulan terhadap jumlah *melanomacrophage center* limpa ikan gurame (*Osphoronemus gouramy*) yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 9(2): 134-145.
- Agius, C., & Roberts, R. 2003. Melanomacrophage centers and their role in fish pathology. *Journal of Fish Diseases*. 26: 499-509.
- Akbar, J., & Fran, S. 2013. *Manajemen Kesehatan Ikan*. P3AI Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin. Banjarmasin. 195 hlm.
- 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.
- Arham, M. 2018. Optimasi penggunaan vaksin bakteri *Streptococcus iniae* pada induk ikan nila salin (*Oreochromis niloticus*) terhadap ketahanan benih dan kelangsungan hidup. *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Universitas Muhammadiyah Makasar. Makasar. 53 hlm.
- Aryanto, E. W., Sukenda., & Dinamella, W. 2011. Patogenisitas *Streptococcus agalactiae* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 113 hlm.
- Asagabaldan, M. A. 2013. Efikasi vaksin polivalen *Aeromonas hydrophila* isolat jawa timur pada lele dumbo (*Clarias* sp.). *Skripsi*. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 41 hlm.

- Ashari, C., Tumbol, R. A., & Kolopita, M. E. F. 2014. Diagnosa penyakit bakterial pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan pada jaring tancap di Danau Tondano. *Budidaya Perairan*. 2(3): 24-30.
- Azhari, M., Handayani, L., & Nurhayati. 2020. Pengaruh penambahan arang aktif tulang ikan pada pakan terhadap gambaran darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal TILAPIA*. 1(2): 19-27.
- Badan Standarisasi Nasional. 2009. SNI 7550:2009. *Produksi Ikan Nila (Oreochromis niloticus Bleeker) Kelas Pembesaran Di Kolam Air Tenang*. Jakarta. 12 hlm.
- Bahar, S. I., Harpen, E., & Effendi, E. 2017. Respon imun spesifik larva ikan mas (*Cyprinus carpio*) melalui imunitas maternal yang diberi vaksin inaktif *whole cell Aeromonas salmonicida*. *Biospecies*. 10(1): 37-43.
- Christina, B. B. H., Fransisca, C., Kristin, K., Caroline, & Sudiono, J. 2015. Peran monosit (makrofag) pada proses angiogenesis dan fibrosis. *Seminar Nasional Cendekiawan*. Universitas Trisakti. Jakarta. 6 hlm.
- Daenuri, D., & Sinaga, W. H. 2011. Patogenisitas *Streptococcus agalactiae* dan *Streptococcus iniae* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Berita Biologi*. 10(5): 589-595.
- Dahril, I., Tang, U. M., & Putra, I. 2017. Pengaruh salinitas berbeda terhadap pertumbuhan dan kelulushidupan benih ikan nila merah (*Oreochromis sp.*). *Berkala Perikanan Terubuk*. 45(3): 67-75.
- Dang, T. S. M. 2020. Melanomacrophage centers and mucus cell of shorthorn sculpin (*Myoxocephalus scorpius*) as biomarkers of contaminants. *Tesis*. University of Tasmania. Tasmania. 181 hlm.
- El-Sayed, A. F. M. 2020. *Tilapia Culture*. Oceanography Department, Alexandria University. Mesir. 21-31 hlm.
- Ernawati, N. M., & Dewi, A. P. W. K. 2016. Kajian kesesuaian kualitas air untuk pengembangan keramba jaring apung di pulau serangan, Bali. *Ecotrophic*. 10(1): 75-80.
- Faisal, M., Samaha, H., & Loch, T. P. 2017. *Fish Diseases Prevention and Control Strategies*. Academic Press. Cambridge. 278 pp.
- Francisca, N. E., & Muhsoni, F. F. 2021. Laju pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan nila (*Oreochromis niloticus*) pada salinitas yang berbeda. *Journal of Juvenil*. 2(3): 166-175.
- Froese, R. & Pauly, D. Editors. 2023. Fishbase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (2/2023).

- Gardenia, L., Koesharyani, I., & Aryati, Y. 2011. Kasus infeksi alami: diagnose *Streptococcus agalactiae* dari jaringan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) menggunakan *polymerase chain reaction*. *Jurnal Perikanan*. 8(1): 22-26.
- Hadi, N., Aliza, D., & Daud, R. 2017. The amount of melanomacrophage centers (MMC) in liver and kidneys of tilapia (*Oreochromis niloticus*) maintained in various population density. *Jurnal Medika Veterinaria*. 11(2): 77-81.
- Hardi, E. H., Sukenda, Harris, E., & Lusiastuti, A. M. 2011. Karakteristik dan patogenisitas *Streptococcus agalactiae* tipe β -hemolitik dan non-hemolitik pada ikan nila. *Jurnal Veteriner*. 12(2): 152-164.
- Hastuti, S. D. 2013. Aplikasi antigen bakteri *Streptococcus agalactiae* sebagai kandidat vaksin untuk pencegahan penyakit streptococcosis pada ikan nila (*Oreochromis sp*). *Jurnal Gamma*. 8(2): 64-79.
- Ikhwan, Y., Nazaruddin, & Aliza, D. 2013. Gambaran histopatologis hati ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi cekaman panas dan tepung daun jaloh (*Salis tetrasperma* Roxb). *Jurnal Medika Veterinaria*. 7(2): 130-134.
- Irwan, D., Sari, S. P., Prasetyono, E., & Syarif, A.F. 2019. Performa pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan seluang (*Rasbora einthovenii*) pada perlakuan pH yang berbeda. *Jurnal Akuakultur*. 4(2):15-21.
- Kementerian Kelautan Perikanan. 2022. *Rilis Data Kelautan dan Perikanan Triwulan I Tahun 2022*. 16 hlm.
- Kementerian Kelautan Perikanan. 2022. *Obat Ikan Terdaftar di KKP per Juni 2022*. 27 hlm.
- Lan, T. N. G., Salin, K. R., Longyant, S., Senapin, S., & Dong, H. T. 2020. Systematic and mucosal antibody response of freshwater cultured asian seabass (*Lates calcarifer*) to monovalent and bivalent vaccines against *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus iniae*. *Fish and Shellfish Immunology*. 108: 7-13.
- Lestari, D. F., & Syukriah. 2020. Manajemen stres pada ikan untuk akuakultur berkelanjutan. *Jurnal Ahli Muda Indonesia*. 1(1): 96-105.
- Lusiastuti, A. M. 2022. *Inovasi Pengembangan Vaksin Untuk Budidaya Ikan Air Tawar Berkelanjutan*. Badan Riset dan Inovasi Nasional. Jakarta. 78 hlm.
- Lukman., Mulyana., & Mumpuni, F. S. 2014. Efektivitas pemberian akar tuba (*Derris elliptica*) terhadap lama waktu kematian ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Pertanian*. 5(1): 22-31.
- Mailani, D., Olga, Fatmawati, & Fauzana, N. A. 2020. Vaksin bivalen *Aeromonas hydrophila* untuk meningkatkan kesehatan tubuh ikan patin siam (*Pangasius*

- hypophthalmus*) terhadap serangan *Motile aeromonas septicaemia*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 10(1): 43-54.
- Marlina, E., & Rakhmawati. 2016. Kajian kandungan ammonia pada budidaya ikan nila (*Oreochromis niloticus*) menggunakan teknologi akuaponik tanaman tomat (*Solanum lycopersicum*). *Prosiding Seminar Nasional*. Politeknik Negeri Lampung. Bandar Lampung. 181-187 hlm.
- Mariska, M., Nazaruddin, & Armansyah T. R. T. 2020. Gambaran histopatologi limpa jantan ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*) yang terpapar merkuri klorida (HgCl₂). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*. 4(1): 1-8.
- Masturoh, I. & Anggita N. T. 2018. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan. Bandung. 297 hlm.
- Matheos, C., Lintong, P., & Kairupan, C. 2013. Gambaran histopatologik jaringan limpa tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinfeksi *Eschericia coli* dan diberi madu. *Jurnal e-Biomedik*. 1(2): 961-965.
- Minjoyo, H., Prihaningrum, A., Rivaie, A. R., & Dharmawati, V. 2021. Growth performance and immune response of silver pompano seeds (*Trachinotus blocii*) fed with feed containing immunostimulant supplements. *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. 9(2): 1117-1130.
- Mulia, D. S. 2007. Keefektifan vaksin *Aeromonas hydrophila* untuk mengendalikan penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) pada gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.). *Jurnal Pembangunan Pedesaan*. 7(1): 43-52.
- Mulia, D. S., Susanti, I. T., Maryanto, H., & Purbomartono, C. 2015. Uji lapang pakan bervaksin *Aeromonas hydrophila* pada lele dumbo di daerah banyumas. *Seminar Nasional XII*. Universitas Negeri Surakarta.
- Mulia, D. S., Apriyanti, W., Maryanto, H., & Purbomartono, C. 2019. Imunogenisitas antigen *whole cell* bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Sains Akuatik*. 14(1): 25-32.
- Mulyani, Y. S., Yulisman, & Fitriani, M. 2014. Pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dipuasakan secara periodik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*. 2(1): 1-12.
- Muqlan, M., Rahimi, S. A. E., & Dewiyanti, I. 2017. Pertumbuhan dan kelangsungan hidup benih ikan nila gesit (*Oreochromis niloticus*) pada sistem akuaponik dengan jenis tanaman yang berbeda. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*. 2(1): 183-193.
- Nauval, M. I., 2022. Uji keamanan vaksin koktail *Aeromonas hydrophila* dan *Streptococcus agalactiae* terhadap resistensi biakan ikan nila dengan metode perendaman. *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta. 59 hlm.

- Novianti, T. 2020. *Modul Mata Kuliah Bioteknologi Kedokteran*. Universitas Esa Unggul. Jakarta Barat. 15 hlm.
- Nugroho, R. A., & Nur, F. M. 2018. *Potensi Bahan Hayati sebagai Imunostimulan Hewan Akuatik*. Deepublish. Yogyakarta. 109 hlm.
- Nurchayati, S., Haeruddin, Basuki, F., & Sarjito. 2021. Analisis kesesuaian lahan budidaya nila salin (*Oreochromis niloticus*) di pertambakan Kecamatan Tayu. *Journal of Fisheries Science and Technology*. 17(4): 224-233.
- Ode, I. 2013. Kajian sistem imunitas untuk pengendalian penyakit pada ikan dan udang. *Jurnal Ilmiah Agribisnis dan Perikanan*.6(2): 41-43.
- Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 22 Tahun 2021 tentang Penyelenggaraan Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup.
- Phuoc, N. N., Linh, N. T. H., Crestani, C., & Zadoks R. N. 2021. Effect of strain and enviromental conditions on the virulence of *Streptococcus agalactiae* (Group B *Streptococcus*; GBS) in red tilapia (*Oreochromis* sp.). *Journal of Aquaculture*. 534: 1-8.
- Prakoso, V. A., & Chang, Y. J. 2018. Pengaruh hipoksia terhadap konsumsi oksigen pada benih ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Oseonologi dan Limnologi di Indonesia*. 3(2): 165-171.
- Pratama, M. A., Arthana, I. W., & Kartika, G. R. A. 2021. Fluktuasi kualitas air budidaya ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan beberapa variasi sistem resirkulasi. *Current Trends in Aquatic Science*. 4(1): 102-107.
- Pratiwi, D., Aliza, D., Nazarudin., Zuhrawati., Budiman, H., & Daud, R. 2019. The distribution of melanomacrophage center in liver and kidney of tilapia fish that infected by *Aeromonas hydrophilic*. *Jurnal Medika Veterinaria*. 13(2): 248-252.
- Prasetyo, D., Santosa., P. E., Hartono, M., & Sirat M. M. P. 2021. Pengaruh pemberian imunomodulator jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap titer anti bodi avian influenza dan newcastle disease pada broiler jantan. *Jurnal Riset dan Inovasi Peternakan*. 5(1): 37-42.
- Ramadhani, Mulyadi, & Rusliadi. 2018. Pemeliharaan ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) pada bentuk wadah berbeda dengan sistem resirkulasi. *Jurnal Universitas Riau*. 1-10.
- Ridwantara, D., Buwono, I. D., Handaka, A. A., Lili, W., & Bangkit, I. 2019. Uji kelangsungan hidup dan pertumbuhan benih ikan mas mantap (*Cyprinus carpio*) pada rentang suhu yang berbeda. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 10(1): 46-54.

- Rustikawati, I. 2011. Peningkatan imunitas ikan nila (*Oreochromis niloticus*) terhadap serangan *Streptococciosis* menggunakan ekstrak *Sargassum* sp. 1(1): 18-30.
- Sari, R. H., Setyawan, A., & Suparmono. 2013. Peningkatan imunogenisitas vaksin inaktif *Aeromonas salmonicida* dengan penambahan adjuvant pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. 1(2): 87-94.
- Setyawan, A., Hudaidah, S., & Zafeskan, Z. 2012. Imunogenisitas vaksin inaktif whole cell *Aeromonas salmonicida* pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan*. 1(1): 17-22.
- Setyawan, A. & Fidyandini, H. P. 2019. *Imunologi Ikan*. Anugrah Utama Raharja. Bandar Lampung. 56 hlm.
- Siegers, W. H., Prayitno, Y., & Sari, A. 2019. Pengaruh kualitas air terhadap pertumbuhan ikan nila nirwana (*Oreochromis* sp.) pada tambak payau. *The Journal of Fisheries Development*. 3(2): 95-104.
- Steinel, N. C., dan Bolnick, D. I. 2017. Melanomacrophage centers as a histological indicator of immune function in fish and other poikilotherms. *Frontiers in Immunology*. 8: 1-8.
- Suardana, I. B. K. 2017. *Diktat Imunologi Dasar Sistem Imun*. Universitas Udayana. Bali. 36 hlm.
- 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, I., & Nurmawanti. 2020. Pola infeksi *Streptococcus agalactiae* strain 105O dan N14G pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Riset Akuakultur*. 15(1): 51-58.
- Sukenda., Febriansyah, T. R., & Nuryati, S. 2014. Efikasi vaksin sel utuh *Streptococcus agalactiae* pada ikan nila *Oreochromis* sp. melalui perendaman. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 13(1): 83-93.
- 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.
- Supono. 2015. *Manajemen Lingkungan untuk Akuakultur*. Plantaxia. Yogyakarta. 114 hlm.

- Supriyadi, H. 2006. Infeksi bakteri *Streptococcus iniae* pada ikan budidaya di Indonesia. *Media Akuakultur*. 1(2): 71-74.
- Supriatna., Mahmudi, M., Musa, M., & Kusriani. 2020. Hubungan pH dengan parameter kualitas air pada tambak intensif udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Journal Of Fisheries and Marine*. 4(3): 368-374.
- Sutanti., Megawati, N., Pranoto, S.H., dan Aliah, R.S. 2016. Produksi dan aplikasi vaksin DNA *Streptococcus iniae* untuk meningkatkan imunitas nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*. 18(2): 61-66.
- Taukhid, Purwaningsih, U., Sugiani, D., & Lusiastuti, A.M. 2015. Efikasi vaksin inaktif bakteri *Aeromonas hydrophila*-AHL0905-2 (HYDROVAC) dan *Streptococcus agalactiae*-N14G (STREPTOVAC) untuk pencegahan penyakit bakterial pada ikan budidaya air tawar. *Jurnal Riset Akuakultur*. 10(4): 541-551.
- Triana, A. K., Kurnia, B., & Wibawa, D. K. 2016. Vaksinasi pada berbagai komoditas ikan laut di tambak. *Aquaculture for business and food security*. 1(1): 87-92.
- Wajima, T., Hagimoto, A., Tanaka, E., & Kawamura, Y. 2022. Identification and characterisation of a novel multidrug-resistant *Streptococcus*, *Streptococcus toyakuensis* sp. nov., from a blood sample. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 29: 316-322.
- Wu, Y., Gong, Q., Fang, H., Liang, W., Chen, M., & He, R. 2012. Effect of spora flavences on non-specific immune response of tilapia (GIFT *Oreochromis niloticus*) and disease resistance against *Streptococcus agalactiae*. *Journal of Fish and Shellfish Immunology*. 30: 1-8.
- Yanong, R. P. E., & Francis-Floyd. 2019. *Streptococcal Infections of Fish*. Universitas Florida. Florida. 5 pp.
- Yanong, R.P.E. 2017. *Use of vaccines in finfish aquaculture*. Universitas Florida. Florida. 7 pp.
- Ye, X., Li, J., Lu, M., Deng, G., Jiang, X., Tian, Y., Quan, Y., & Jian, Q. 2011. Identification and molecular typing of *Streptococcus agalactiae* isolated from pond cultured tilapia in china. *Fish Sci*. 77: 623-632.