

**EFEKTIFITAS VAKSIN SEL UTUH *Streptococcus agalactiae* YANG DIRENDAM  
PADA *Artemia* SP. DENGAN WAKTU PEMBERIAN YANG BERBEDA  
PADA IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)**

**EFFECTIVENESS OF *Streptococcus agalactiae* WHOLE CELL VACCINES  
IMMERSION IN *Artemia* sp. WITH DIFFERENT GIVING TIME  
IN NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*)**

**Rusli<sup>1</sup> dan Fauziah Nurdin<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Budidaya Perikanan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkep,  
Correspondence Author: rullink76@gmail.com

**ABSTRAK**

Penyakit yang paling sering dijumpai pada budidaya ikan nila adalah streptococcosis, yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus agalactiae*. Salah satu upaya pencegahan yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah penyakit streptococcosis yaitu dengan cara menumbuhkan kekebalan dalam tubuh ikan dengan vaksinasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efektivitas vaksin sel utuh *S. agalactiae* yang direndam pada *Artemia* sp dengan interval waktu pemberian vaksin yang berbeda untuk pencegahan terhadap Streptococcosis pada ikan nila. Benih ikan nila yang digunakan dalam penelitian adalah ukuran 2-3 cm, dipelihara dalam stoples volume 3 liter sebanyak sepuluh ekor/stoples. Lama waktu perendaman vaksin pada *Artemia* sp. yaitu 30 menit dengan waktu pemberian vaksin 1 kali pada hari ke-1, 3 kali pada hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5 dan 5 kali pada hari ke-1 sampai hari ke-5. Parameter yang diamati yaitu relative percent survival (RPS). Hasil penelitian nilai RPS menunjukkan perlakuan antara vaksin dan kontrol berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Nilai RPS tertinggi didapatkan pada perlakuan 4 dengan nilai 93,33%, Selanjutnya RPS 72,2% pada perlakuan 3 serta RPS 16,6% pada perlakuan 2 yang tidak berbeda nyata terhadap kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan 4 dan perlakuan 3 memberi proteksi terhadap streptococcosis pada benih ikan nila.

Kata kunci : Ikan nila, *Artemia* sp., *Streptococcus agalactiae*, waktu pemberian vaksin.

**ABSTRACT**

*The most common disease found in Nile tilapia cultivation is streptococcosis, which is caused by the bacterium Streptococcus agalactiae. One of the prevention efforts that can be done to overcome the problem of streptococcosis disease is by growing immunity in the fish's body by vaccination. This study aimed to examine the effectiveness of the whole cell vaccine of S. agalactiae immersion in Artemia sp with different intervals of vaccine administration for the prevention of Streptococcosis in Nile tilapia. The Nile tilapia seeds used in this study were 2-3 cm in size, kept in 3 liter jars of ten fish/jar. Vaccine immersion time in Artemia sp. ie 30 minutes with the time of giving the vaccine 1 time on day 1, 3 times on day 1, day 3, day 5 and 5 times on day 1 to day 5. The parameter observed is relative percent survival (RPS). The results of the study showed that the RPS value of the treatment between the vaccine and control was significantly different ( $P < 0.05$ ). The highest RPS value was obtained in treatment 4 with a value of 93.33%, then 72.2% RPS in treatment 3 and 16.6% RPS in treatment 2 which were not significantly different from the control. This indicated that treatment 4 and treatment 3 provided protection against streptococcosis in Nile tilapia fry.*

Keywords: Nile tilapia, *Artemia* sp., *Streptococcus agalactiae*, vaccination time.

## PENDAHULUAN

Ikan nila merupakan salah satu komoditas perikanan tawar yang tergolong populer sebagai ikan budidaya. Hal ini menggiring kepada peningkatan intensifikasi budidaya yang menyebabkan ikan ini tidak terlepas dari masalah penyakit akibat infeksi virus dan bakteri dan dapat menyebabkan kerugian bagi pembudidaya. Kebanyakan diantara penyakit tersebut yang paling sering dijumpai streptococcosis, penyakit ini yang secara signifikan menyebabkan kematian pada budidaya nila. Menurut Sheehan *et al.* (2009), terdapat dua spesies merupakan agen utama dalam penyebaran penyakit ini yaitu bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Streptococcus iniae*, namun yang paling sering ditemukan menginfeksi ikan nila adalah *S. agalactiae*. Beberapa peneliti juga telah melaporkan penyebaran dan infeksi dari bakteri *S. agalactiae* pada ikan nila di Indonesia (Lusiastuti *et al.* 2009; Lusiastuti *et al.* 2014; Anshary *et al.* 2014).

Salah satu upaya pencegahan yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah penyakit streptococcosis yaitu dengan cara menumbuhkan kekebalan dalam tubuh ikan, antara lain dengan vaksinasi. Vaksinasi merupakan cara efektif dalam upaya penanggulangan penyakit ikan (Ellis 1988). Vaksinasi pada ikan akan merangsang terbentuknya antibodi yang akan memproteksi terhadap serangan penyakit tertentu. Teknik aplikasi vaksin pada ikan ada beberapa cara yaitu : (1). Aplikasi vaksin melalui perendaman (2). Aplikasi vaksin melalui pakan (3). Aplikasi vaksin melalui suntikan. Masing-masing metode vaksinasi mempunyai kelebihan dan kekurangan dalam penerapannya. Vaksinasi ikan yang berukuran kecil (benih) lebih efektif menggunakan metoda perendaman dan metoda via oral. Metode pemberian vaksin pada melalui oral dengan mencampur pakan dengan vaksin telah banyak dilakukan, dan memberikan tingkat proteksi yang cukup baik. Baik pada benih maupun pada ikan yang telah dipelihara pada kolam-kolam budidaya. *Artemia* sp selain sebagai pakan alami, juga dapat dimanfaatkan sebagai pembawa (vektor) vaksin, beberapa nutrisi esensial, antibiotik, pigmen, obat-obatan, dan imunostimulan (Isnansetyo dan Kurniastuti 1995). Kelebihan pemberian vaksin melalui *Artemia* sp. menurut Lin *et al.* (2007) adalah *Artemia* sp. merupakan *starter* pakan alami bagi larva ikan sehingga diharapkan vaksin dalam tubuh *Artemia* sp. cepat masuk ke dalam tubuh ikan.

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama 4 bulan, bertempat di Laboratorium Kesehatan Ikan dan Laboratorium basah, Jurusan Teknologi Budidaya Perikanan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan.

### Materi Penelitian

Hewan uji yang digunakan adalah benih ikan nila dengan ukuran 2-3 cm yang telah diverifikasi tidak membawa *S. Agalactiae*. Sebelum digunakan dalam percobaan, ikan uji diadaptasikan terlebih dahulu terhadap kondisi laboratorium di dalam sebuah bak penampungan sementara. Ikan diberikan pakan komersil dengan dosis 3% dari bobot biomassa, kandungan protein 33% dan diberikan dua kali sehari, yaitu pagi dan sore hari. Kualitas air dijaga pada kondisi optimal pertumbuhan ikan. Isolat bakteri *S. agalactiae* dari koleksi Laboratorium Kesehatan Ikan Jurusan Teknologi Budidaya Perikanan. *Artemia* sp. yang digunakan bermerk Supreme Plus yang diproduksi oleh Golden Mark®, USA, dengan derajat penetasan (*hatching rate*) sekitar 80–90%.

### Preparasi Vaksin

Isolat bakteri *S. agalactiae* pada cawan petri diambil sebanyak 1 ose dan dimasukkan ke dalam 10 ml BHIB cair secara aseptik. Diinkubasi pada suhu 29°C pada inkubator selama 24 jam. Kemudian biakan bakteri diambil sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam masing-masing 9 ml BHIB, dan diinkubasi pada suhu 29°C selama 24 jam. Biakan bakteri sebanyak 10 ml selanjutnya dimasukkan ke dalam masing-masing 90 ml BHIB dan diinkubasi selama 72 jam dengan asumsi konsentrasi  $4 \times 10^9$  cfu/mL (Klesius *et al.* 2000; Evans *et al.* 2004). Biakan bakteri dengan volume 100 ml ditambahkan *neutral buffer formaline* 3% dari volume biakan (Hardi *et al.* 2013; Amrullah 2014) dan diinkubasi kembali selama 24 jam. Pembuatan vaksin sel utuh biakan bakteri yang telah diinaktivasi kemudian disentrifuge pada kecepatan 5.000 rpm selama 30 menit. Larutan supernatan dan endapan pelet yang terbentuk kemudian dipisahkan. Endapan pelet bakteri yang telah terpisah kemudian dicuci dengan menambahkan Phospat Buffer Saline (PBS) 100 ml lalu disentrifuge pada 5.000 rpm selama 15 menit, kegiatan pencucian sel bakteri dilakukan sebanyak tiga kali dengan PBS, endapan pelet kemudian ditambahkan kembali PBS hingga 100 ml dan disimpan pada refrigator untuk kemudian dipakai pada vaksinasi ikan.

## Vaksinasi

Pengkayaan artemia dengan vaksin sel utuh dengan cara merendam *Artemia* sp. dalam larutan vaksin dengan waktu sama yaitu 30 menit (Rusli, dkk 2018). *Artemia* sp. ditetaskan dengan salinitas 29 ppt selama 18–24 jam. *Artemia* sp. yang telah menetas dipisahkan menggunakan penyaring dengan ukuran 150 mesh kemudian ditimbang sesuai dengan dosis yang akan diberikan ke ikan nila. Satu ekor *Artemia* sp. mampu memakan bakteri sebanyak  $10^5$  cfu/mL (Lin *et al.*, 2007), sehingga diperlukan 40 ekor *Artemia* sp. untuk satu ekor ikan nila yang akan divaksinasi dengan dosis bakteri  $10^9$  cfu/mL dan vaksin diberikan dengan interval waktu yang berbeda pada ikan. Rancangan percobaan menggunakan rancangan acak lengkap dengan tiga ulangan sebagai berikut :

Perlakuan P1 : Tanpa pemberian vaksin (Kontrol)

Perlakuan P2 : Pemberian *Artemia* sp vaksin hari ke-1

Perlakuan P3 : Pemberian *Artemia* sp vaksin hari ke-1, hari ke-3 dan hari ke-5

Perlakuan P4 : Pemberian *Artemia* sp vaksin lima hari berturut-turut

## Uji Tantang dan Relative Percent Survival (RPS)

Uji tantang ikan yang telah divaksin dengan bakteri *S. agalactiae* dengan dosis sesuai dengan uji Lethal Dose 50% ( $LD_{50}$ ) dengan cara perendaman ikan selama 30 menit dalam air yang mengandung bakteri *S. agalactiae* virulen.

Mortalitas ikan dicatat dan tingkat proteksi relatif vaksin dihitung dengan *Relative Percent Survival* (RPS) (Ellis, 1988) rumus :

$$RPS = 1 - \left( \frac{\text{Percentof immunized mortality}}{\text{Percentof controlmortality}} \right) \times 100\%$$

## Analisis Data

Data *Relative Percent Survival* (RPS) dan nilai titer antibodi, dianalisis dengan analisis sidik ragam untuk mengetahui pengaruh perlakuan yang dicobakan, jika hasil analisis diperoleh beda nyata ( $P < 0,05$ ) maka dilanjutkan dengan uji Duncan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Relative Percent Survival (RPS)

Serangan streptococcosis banyak terjadi pada benih ikan nila, yaitu ikan dengan ukuran kecil dan kepekaan yang tinggi, membuat vaksinasi dengan cara injeksi dan perendaman tidak mungkin dilakukan (Lin *et al.*, 2007). Oleh karena itu vaksinasi secara oral melalui pakan alami bisa menjadi solusi pada benih ikan nila. Pemberian vaksin

secara oral memiliki kendala yaitu antigen akan tercerna oleh enzim gastrointestinal, oleh karena itu antigen yang akan dimasukkan ke dalam tubuh ikan perlu dilindungi agar dapat sampai ke dalam usus ikan. Vaksin yang dimasukkan ke dalam tubuh *Artemia* sp. hidup diharapkan lebih aman, tidak menimbulkan stres pada ikan, dan mudah diterapkan oleh pembudidaya (Lin et al., 2007). Agar vaksinasi yang dilakukan tidak menimbulkan stres pada ikan, maka vaksinasi secara oral lebih disarankan dibandingkan pemberian vaksin melalui perendaman maupun injeksi.

Nilai RPS digunakan untuk mengetahui efektifitas vaksin dalam melindungi ikan uji pasca vaksinasi dengan bakteri virulen. Dimana tingkat proteksi vaksin atau nilai RPS disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Data nilai rata-rata mortalitas ikan dan RPS

Perlakuan	Mortalitas (%)	RPS (%)
P1	53,33	0 <sup>a</sup>
P2	43,33	16,67 <sup>a</sup>
P3	13,33	72,2 <sup>b</sup>
P4	3,33	94,4 <sup>b</sup>

Dari data terlihat bahwa mortalitas ikan yang telah diberi vaksin lebih rendah dibanding ikan yang tidak diberi vaksin (kontrol). Mortalitas ikan terendah yaitu pada perlakuan 4 dengan nilai 3,33% dan mortalitas tertinggi yaitu pada kontrol dengan nilai 53,33%. Hal ini bahwa menunjukkan pemberian vaksin pada ikan dapat menstimulus kekebalan tubuh ikan terhadap infeksi bakteri virulen penginduksinya sehingga tingkat mortalitas ikan yang divaksin lebih rendah. Vaksin adalah bahan antigenik yang digunakan untuk menghasilkan kekebalan aktif terhadap suatu penyakit sehingga dapat mencegah atau mengurangi pengaruh infeksi (Alifuddin, 2002).

Nilai RPS vaksin pasca uji tantang tertinggi terdapat pada perlakuan 4 yaitu 94,4%, diikuti perlakuan 3 yaitu 72,2% dan terendah pada perlakuan 2 yaitu 16,67%. Dimana hasil perhitungan analisis sidik ragam dan uji duncan menunjukkan bahwa antara perlakuan berbeda nyata ( $p > 0,05$ ). Perlakuan 2 berbeda nyata dengan perlakuan 3 dan perlakuan 4, sedangkan perlakuan 3 dan 4 tidak berbeda nyata. Dan antara perlakuan 2 dengan perlakuan kontrol tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian vaksin pada benih ikan nila dengan perendaman 30 menit pada *Artemia* sp. dan pemberian secara oral hanya sekali saja tidak mampu menstimulus kekebalan tubuh pada ikan terhadap infeksi *Streptococcus agalactiae* virulen dengan mortalitas 43,33%.

Hal ini terlihat pada rendahnya nilai RPS yaitu 16,67. Menurut Alifuddin (2002) bahwa secara umum, efektivitas vaksin dianggap baik, apabila nilai RPS  $\geq 50\%$ .

Pada perlakuan 4 dan perlakuan 3 tidak berbeda nyata, dimana nilai RPS masing-masing adalah 94,4% dan 72,2%. Artinya kedua metoda vaksin ini mampu memproteksi benih ikan nilai dari infeksi, peningkatan kekebalan tubuh pada ikan yang divaksin mengindikasikan adanya pengaktifan respon imun spesifik terhadap bakteri *S. agalactiae*, efektivitas vaksin dianggap baik apabila nilai RPS  $>50\%$  (Alifuddin 2002). Antibodi yang jumlah dan konsentrasinya lebih banyak dalam serum darah merupakan penangkal serangan agen penyakit masuk ke dalam tubuh. Terbentuknya antibodi spesifik dimulai dengan masuknya antigen yaitu *S. agalactiae* ke dalam tubuh ikan dan difagositosis oleh makrofag. Makrofag akan memberi rangsangan ke sel limfosit untuk memproduksi antibodi sesuai jenis antigen yang masuk. Pembentukan antibodi dipengaruhi oleh faktor suhu, dosis, cara, umur dan bobot serta sifat antigen (Tizard, 1988; Ellis, 1988).

## KESIMPULAN

Efikasi vaksin sel utuh yang direndam selama 30 menit dalam *Artemia* sp memberikan tingkat proteksi yang tinggi pada pemberian lima hari berturut-turut dengan nilai RPS 94,4%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alifuddin M. 2002. Immunostimulasi pada hewan akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 1 (2): 87-92.
- Amrullah 2014. Imunoproteksi Vaksin Protein Toksoid Bakteri *Streptococcus agalactiae* Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). [disertasi]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Anh NTN, Hoa NV, Staphen GV, Sorgeloos P. 2009. Effect of different supplemental feeds on proximate composition and *Artemia* biomass production in salt ponds. *Aquaculture* 286: 217-225.
- Anshary H, Kurniawan RA, Sriwulan, Ramli, and Baxa DV. 2014. Isolation and molecular identification of the etiological agents of streptococcosis in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in net cages in Lake Sentani, Papua, Indonesia. National Institutes of Health. US National Library of Medicine.
- Firdaus NM, Yusoff SM, Yusof H, Abdullah, SZ, Zamri S M. 2012. Efficacy of feed-based adjuvant vaccine against *Streptococcus agalactiae* in *Oreochromis* spp. *Aquac. Res.* 1–10.
- Hardi EH, Sukenda, Harris E, Lusiastuti AM. 2013. Kandidat Vaksin Potensial *Streptococcus agalactiae* untuk Pencegahan Penyakit Streptococcosis pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Veteriner*. Vol 14. No. 4.

- Isnansetyo, Kurniastuty A. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton; Pakan alami untuk Pembenihan Organisme Laut. Yogyakarta. Kanisius.
- Lin CC, Jhon HYL, Ming SC, Huey LY. 2007. An oral nervous necrosis virus vaccine that induced protective immunity in larvae of grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture* 268: 265–273.
- Lusiastuti AM, Taukhid, Kusriani E, Hadie W. 2009. Sequens analysis of *S. agalactiae* : A pathogen causing Streptococcosis in Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Indonesia Aquaculture Journal* 4(2): 87-92.
- Rusli, Mulyati, Suryati. 2017. Efikasi Vaksin Sel utuh *Streptococcus agalactiae* dengan Vektor *Artemia* sp. untuk Pencegahan Streptococcosis pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Laporan Penelitian. Politeknik Pertanian Negeri Pangkep.
- Sheehan B, Labrie L, Lee YS, Wong FS, Chan J, Komar C, Wendover N, Grisez L. 2009. Streptococcal diseases in farmed tilapia. *Aquaculture Asia pacific* 5:26-29