



**GAMBARAN PARAMETER HEMATOLOGIS PADA IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)
YANG DIBERI VAKSIN DNA *Streptococcus iniae* DENGAN DOSIS YANG BERBEDA**
*Haematological Performances in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) was given by DNA Vaccine
Streptococcus iniae with The Different Doses*

Devitha Tri Utami¹, Slamet Budi Prayitno^{1*}, Sri Hastuti¹, Ayi Santika²

¹Program Studi Budidaya Perairan
Jurusan Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto, SH Tembalang-Semarang,

²Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar (BBPBAT) Sukabumi
Jl. Selabintana No. 37 kotak pos 67 Kota Sukabumi 43114

ABSTRAK

Nila (*O. niloticus*) merupakan salah satu ikan air tawar yang memiliki pertumbuhan cepat dan mudah dibudidayakan. Salah satu kendala dalam budidaya ikan nila adalah serangan penyakit *Streptococciosis* yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus iniae*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon hematologis ikan Nila yang diberi vaksin DNA *S. iniae* dan diuji tantang dengan bakteri *S. iniae*, serta mengetahui dosis vaksin DNA yang paling efektif dilihat dari parameter hematologis dalam upaya pencegahan terhadap bakteri *S. iniae*. Ikan uji yang digunakan adalah ikan nila dengan panjang $7,79 \pm 0,48$ cm sebanyak 150 ekor atau 10 ekor per perlakuan. Penelitian ini menggunakan 5 perlakuan dan 3 ulangan, yaitu perlakuan A (0 ng/ μ L), B (10ng/ μ L), C (20ng/ μ L), D (30ng/ μ L), dan E (40ng/ μ L) dengan injeksi intra-muskular. Ikan dipelihara selama 30 hari lalu diuji tantang dengan bakteri *S. iniae* selama 14 hari. Pengukuran parameter hematologis meliputi kadar hematokrit, total leukosit, diferensial leukosit, dan indeks fagositosis dilakukan setiap 7 hari sekali. Hasil pengamatan terhadap gejala klinis ikan uji pasca uji tantang diperoleh bahwa ikan pada perlakuan A dan B menunjukkan gejala klinis yang lebih cepat dibandingkan ikan pada perlakuan C, D, dan E. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian vaksin DNA *S. iniae* pada perlakuan E berpengaruh nyata terhadap kadar hematokrit (25,67%), total leukosit ($9,46 \times 10^4$ sel/ mm^3), limfosit (80,33%), monosit (5,67%), neutrofil (14%), indeks fagositosis (22,33%), dan kelangsungan hidup (70%). Dengan demikian, dosis vaksin 40ng/ μ L merupakan dosis yang paling efektif dimana dosis ini bersifat imunogenik dan protektif dalam meningkatkan imunitas ikan nila terhadap serangan bakteri *S. iniae* ditinjau dari aspek hematologis.

Kata kunci: Parameter Hematologis, Vaksin DNA, *Streptococcus iniae*, Ikan Nila

ABSTRACT

Tilapia (O. niloticus) is one of freshwater species that has rapid growth and easily been cultivated. One of the constraints in cultivating Tilapia is Streptococciosis disease caused by Streptococcus iniae. The purpose of this research was to determine the haematological response of Tilapia that was given by DNA vaccine of S. iniae and challenged with S. iniae, and to determine the most effective dose of DNA vaccine based on haematological performances in the prevention of bacteria S. iniae. The fish samples used were Tilapia with length of 7,79 cm \pm 0.48 as many as 150 animals or 10 animals per treatment. Five (5) treatments and three (3) replications were administered in this research, there were A (0 ng/ μ L), B (10ng/ μ L), C (20ng/ μ L), D (30ng/ μ L), dan E (40ng/ μ L) of DNA vaccines the injected intramuscularly. Fish were maintained for 30 days, then challenged with S. iniae for 14 days. Measurement of haematological performances include haematocrit, total leukocyte, differential leukocytes, and phagocytosis index carried out every 7 days. The observation of clinical signs of fish after challenge by S. iniae obtained that fish in A and B treatment showed clinical signs more quickly than fish in C, D, and E treatment. The results showed that DNA vaccines S. iniae in E treatment significantly different on haematocrit levels (25,67%), total leukocytes ($9,46 \times 10^4$ cells/ mm^3), lymphocytes (80,33%), monocytes (5,67%), neutrophils (14%), phagocytosis index (22,33%), and survival rate (70%). It can be conclude that dosage of DNA vaccine 40ng/ μ l is the most effective dosage which is immunogenic and protective in raising Tilapia immunity against bacterial S. iniae based on haematological aspects.

Keywords: Haematological Performances, DNA Vaccines, *Streptococcus iniae*, Tilapia

*Corresponding Author (Email: sbudiprayitno@gmail.com)



PENDAHULUAN

Ikan nila merupakan salah satu ikan air tawar yang memiliki pertumbuhan cepat, mudah dibudidayakan, serta memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Ikan nila dijadikan sebagai sumber protein untuk memenuhi kebutuhan gizi. Upaya untuk memenuhi permintaan pasar ikan nila di Indonesia dilakukan dengan peningkatan dan pengembangan usaha budidaya. Produksi ikan nila pada tahun 2010 sebesar 491.800 ton dan pada tahun 2012 meningkat sebesar 850.000 ton. Kenaikan rata-rata produksi ikan nila selama tahun 2010-2014 sebesar 26,36%. Target produksi ikan nila pada tahun 2013 ditingkatkan menjadi 1,1 juta ton (KKP, 2013). Intensifikasi budidaya ikan nila telah menyebabkan munculnya berbagai kendala antara lain timbulnya masalah penyakit ikan yang bersifat patogenik.

Penyakit *Streptococciosis* merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh bakteri *S. iniae* dan dapat menimbulkan kerugian besar karena tingkat kematian dapat mencapai 50-100% (Dana *et al.*, 2004). Supriyadi *et al.* (2005) telah melakukan penelitian tentang infeksi bakteri pada usaha budidaya ikan nila di Waduk Cirata (Jawa Barat) dan Waduk Gajah Mungkur (Jawa Tengah) yang melaporkan bahwa terdapat infeksi *S. iniae* dan *S. agalactiae* yang menyerang ikan nila sehingga menurunkan proses produksi.

Upaya penanggulangan penyakit *Streptococciosis* dengan menggunakan antibiotik maupun bahan kimia tidak membuat keadaan lebih baik. Antibiotik dapat meninggalkan residu di tubuh ikan sehingga membahayakan bagi manusia yang mengkonsumsinya. Upaya pencegahan yang paling efektif dilakukan dengan meningkatkan sistem kekebalan tubuh ikan baik kekebalan spesifik dengan vaksinasi maupun kekebalan non spesifik dengan pemberian imunostimulan (Parelberg *et al.*, 2005). Vaksin DNA memiliki keunggulan karena dapat merangsang respon imun humoral dan seluler melalui inokulasi DNA yang mengandung sekuen plasmid DNA yang bersifat imunogenik. Penggunaan vaksin DNA sebagai solusi pencegahan penyakit *Streptococciosis* diarahkan pada efikasi pencegahan, meminimalisasi penggunaan antibiotik, serta penyempurnaan vaksin konvensional (Faizal, 2010).

Vaksin DNA *S. iniae* telah dikembangkan oleh Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) Serpong sejak tahun 2010. Penggunaan vaksin DNA *S. iniae*

diharapkan mampu meningkatkan kekebalan tubuh ikan sehingga dapat menghasilkan ikan Nila yang lebih tahan terhadap penyakit *Streptococciosis* khususnya akibat infeksi bakteri *S. iniae* dengan tingkat kelangsungan hidup sebesar 100%.

Gambaran parameter darah (hematologis) merupakan aspek pendukung dalam menentukan status kesehatan ikan. Darah merupakan salah satu komponen pertahanan dari serangan penyakit yang masuk ke dalam tubuh ikan. Evaluasi kondisi kesehatan ikan dapat diketahui melalui diagnosa gambaran darah. Pemeriksaan darah dilakukan untuk memastikan diagnosa suatu penyakit (Purwanto, 2006). Penelitian ini diharapkan mampu mengetahui pengaruh vaksinasi dengan menggunakan vaksin DNA *S. iniae* pada dosis yang berbeda terhadap gambaran hematologis ikan nila sebagai representasi tanggap kebal ikan.

Penelitian ini dilaksanakan di Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar (BBPBAT) Sukabumi, pada bulan Oktober 2012 sampai April 2013. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui respon hematologis ikan nila yang diberi vaksin DNA *S. iniae*, mengetahui respon hematologis ikan nila yang telah diberi vaksin DNA terhadap infeksi bakteri *S. iniae*, dan mengetahui dosis vaksin DNA *S. iniae* yang terbaik dilihat dari parameter hematologis pasca infeksi *S. iniae*.

METODE PENELITIAN

Ikan uji yang digunakan adalah ikan nila bebas bakteri *S. iniae* dengan panjang $7,79 \pm 0,48$ cm sebanyak 150 ekor atau 10 ekor per akuarium. Ikan dipelihara dalam akuarium berukuran 60x40x40cm dengan volume air 40 liter. Isolat murni *S. iniae* berasal dari Laboratorium Loka Pemeriksaan Penyakit Ikan dan Lingkungan (LPPIL) Serang, yang telah ditingkatkan virulensinya sebelum digunakan untuk ujiantang. Vaksin DNA yang digunakan adalah vaksin DNA *S. iniae* yang diproduksi oleh Laboratorium Teknologi Produksi Pertanian Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) Serpong. Selama pemeliharaan, ikan uji diberi pakan buatan berupa pelet secara *at satiation* dengan frekuensi dua kali sehari.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah pemberian dosis vaksin DNA *Streptococcus iniae* melalui injeksi intra-



muskular, dengan dosis berbeda yaitu perlakuan A (0 ng/ μ L), B (10 ng/ μ L), C (20 ng/ μ L), D (30 ng/ μ L), dan E (40 ng/ μ L) dimana setiap ekor ikan disuntik vaksin sebanyak 0,1 mL/ekor pada setiap perlakuan.

Pengumpulan data parameter hematologis dilakukan pada sebelum vaksinasi, setelah vaksinasi, dan ujiantang setiap 7 hari sekali. Parameter hematologis yang diamati meliputi kadar hematokrit (%), total leukosit (sel/ mm^3), diferensial leukosit (%), dan indeks fagositosis (%). Pengambilan darah dengan menggunakan spuit yang sudah dibilas dengan Na-Sitrat 3,8% sebagai anti koagulan darah, kemudian darah diambil pada bagian *vena caudalis*.

Perhitungan kadar hematokrit dinyatakan oleh Anderson dan Siwicki (1993) yaitu sampel darah dihisap dengan tabung mikrohematokrit hingga mencapai $\frac{3}{4}$ bagian tabung. Ujung tabung ditutup dengan *crytoseal* sedalam kira-kira 1 cm, sehingga terbentuk sumbat *crytoseal*. Tabung mikrohematokrit yang telah berisi darah disentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Pengukuran nilai kadar hematokrit dilakukan dengan membandingkan volume padatan sel darah merah dengan volume total darah dengan skala hematokrit, dimana ditentukan dengan perhitungan sebagai berikut:



Metode perhitungan total leukosit dijelaskan oleh Blaxhall dan Daisley (1973) bahwa sampel darah dihisap dengan pipet yang berisi bulir pengaduk warna putih hingga skala 0,5 kemudian larutan *Turk's* ditambahkan hingga skala 11. Pengadukan dilakukan di dalam pipet dengan cara mengayunkan tangan yang memegang pipet seperti membentuk angka delapan selama 3-5 menit hingga darah tercampur rata. Tetapan pertama larutan darah pada pipet dibuang, kemudian tetapkan sampel darah pada *haemocytometer* kemudian ditutup dengan gelas penutup. Jumlah total leukosit dihitung sebanyak 5 kotak dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah sel leukosit terhitung} \times 50 \text{ sel}/\text{mm}^3$$

Perhitungan diferensial leukosit yaitu limfosit, monosit, dan neutrofil dengan pengamatan preparat ulas darah. Metode pembuatan preparat ulas darah yang dijelaskan oleh Anderson dan Siwicki (1993) adalah gelas objek yang digunakan direndam dalam

methanol terlebih dahulu untuk menghilangkan lemak yang menempel kemudian sampel darah 10 μ L ditetaskan pada gelas objek. Ambil gelas objek kedua, kemudian diletakkan pada gelas objek pertama yang terdapat sampel darah dengan sudut 45° dari gelas objek pertama. Geser gelas objek pertama ke belakang sehingga menyentuh sampel darah, kemudian gelas objek kedua digeser berlawanan arah sehingga membentuk lapisan tipis darah, setelah itu ulas darah dikering udarakan. Ulas darah yang sudah kering difiksasi dengan methanol selama 8 menit, lalu dikering udarakan. Ulas darah selanjutnya diwarnai dengan pewarna *Giemsa* selama 15 menit. Preparat darah dibilas dan dicuci dengan *aquadest* (air mengalir). Jenis leukosit diamati dari 100 jumlah sel terhitung.

Metode perhitungan indeks fagositosis yang diungkapkan oleh Anderson dan Siwicki (1993) bahwa sampel darah 50 μ L diambil, kemudian dimasukkan ke dalam *mikrotiter plate*. Suspensi *Staphylococcus aureus* dalam PBS (10^8 CFU/mL) ditambahkan, kemudian larutan dihomogenkan dan diinkubasi dalam suhu ruangan selama 20 menit. Sampel darah 10 μ L diambil untuk sediaan ulas darah, kemudian dikering udarakan. Fiksasi preparat ulas darah dengan methanol selama 8 menit, kemudian dikering udarakan. Rendam preparat ulas darah dalam pewarna *Giemsa* selama 15 menit kemudian cuci dan bilas preparat dengan *aquadest* (air mengalir) dan dikering udarakan. Jumlah sel yang menunjukkan proses fagositosis dihitung dari 100 sel fagosit yang teramati.

Ikan nila yang telah divaksinasi selama pemeliharaan 30 hari, selanjutnya dilakukan ujiantang selama 14 hari. Bakteri yang digunakan adalah bakteri *S. iniae* yang telah ditingkatkan virulensinya dengan kepadatan 10^8 CFU/mL sebanyak 0,1 ml/ekor ikan. Selama ujiantang dilakukan pengamatan gejala klinis dan kelangsungan hidup ikan.

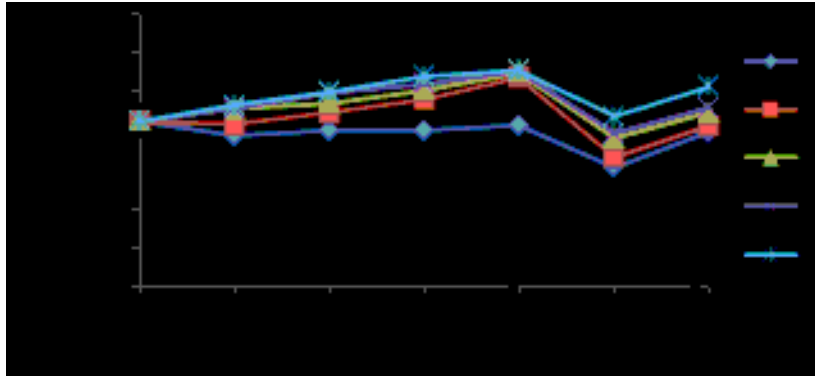
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan parameter hematologis pada ikan nila dilakukan sebelum vaksinasi (hari ke-0), pasca vaksinasi (hari ke-7 sampai hari ke-28), serta pasca ujiantang (hari ke-7 sampai hari ke-14). Pengamatan gejala klinis dan kelangsungan hidup diamati selama 14 hari pasca ujiantang bakteri *S. iniae*.

Hematokrit merupakan perbandingan antara volume sel darah merah dengan plasma darah. Kadar hematokrit ikan nila cenderung bervariasi pada setiap perlakuan. Hasil pengamatan rata-rata persentase kadar

hematokrit ikan nila sebelum vaksinasi, pasca

vaksinasi dan ujiantang tersaji pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik Rata-rata Persentase Kadar Hematokrit (%); Perlakuan A (0 ng/μL); B (dosis vaksin 10 ng/μL); C (dosis vaksin 20 ng/μL); D (dosis vaksin 30 ng/μL); dan E (dosis vaksin 40 ng/μL); Ch: Challenge

Grafik rata-rata persentase kadar hematokrit memperlihatkan pola yang hampir sama antara semua perlakuan baik perlakuan ikan uji yang diberi vaksin maupun ikan yang tidak diberi vaksin. Peningkatan kadar hematokrit terjadi sampai hari ke-28 masa induksi kekebalan vaksin, kemudian mengalami penurunan saat hari ke-7 pasca ujiantang bakteri *S. iniae* dan mengalami peningkatan kembali pada hari ke-14. Pada saat sebelum divaksin rata-rata kadar hematokrit ikan nila normal sebesar 21,23%. Hal ini sedikit berbeda dengan hasil penelitian Hardi (2011) bahwa rata-rata kadar hematokrit ikan nila normal sebesar 27,3-37,8%.

Kadar hematokrit pasca perlakuan pemberian vaksin DNA *S. iniae* sampai hari ke-28 memperlihatkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,05$ dan $P < 0,01$) dengan perlakuan ikan nila yang tidak diberi vaksin DNA. Berdasarkan hasil pengukuran kadar hematokrit ikan nila yang diberi vaksin DNA *S. iniae* (perlakuan B, C, D, dan E) menunjukkan bahwa pada masa vaksinasi terjadi peningkatan yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan ikan yang tidak diberi vaksin DNA. Hal ini memperlihatkan bahwa semakin banyak vaksin DNA yang diberikan akan meningkatkan kadar hematokrit yang lebih tinggi. Kadar hematokrit tertinggi ditunjukkan pada perlakuan E sebesar 27,83%. Hal ini sejalan dengan pendapat Santika *et al.* (2009) bahwa peningkatan kadar hematokrit pada ikan yang diberi vaksin DNA cenderung mampu menstimulasi respon dalam bentuk peningkatan kadar hematokrit sampai kisaran tertentu.

Pasca ujiantang hari ke-7 *S. iniae*, semua perlakuan mengalami penurunan kadar

hematokrit. Penurunan kadar hematokrit ini disebabkan oleh infeksi bakteri *S. iniae*. Penurunan kadar hematokrit pada perlakuan A, B, C, dan D disebabkan oleh ketidakmampuan dalam melawan infeksi bakteri *S. iniae* meskipun perlakuan B dan C mendapat perlakuan vaksin. Hal ini disebabkan jumlah dosis vaksin DNA yang rendah sehingga kurangnya respon memproduksi sel-sel darah. Hal ini juga diperkuat oleh pendapat Hedrick *et al.* (2000) bahwa berkurangnya persentase kadar hematokrit disebabkan oleh banyaknya infeksi.

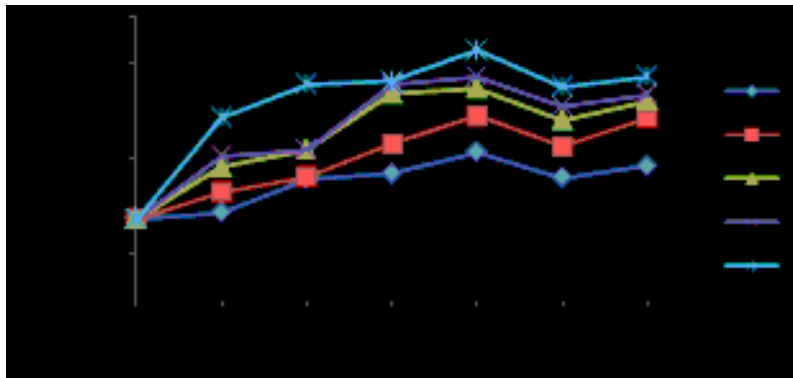
Streptococcus sp. mampu menghemolisis darah dengan cara menghasilkan toksin hemolisin yaitu berupa enzim ekstraseluler. Hemolisin merupakan enzim yang mampu melisis sel darah merah dan membebaskan hemoglobinnya, sehingga eritrosit akan lisis (Hardi, 2011; Sheehan *et al.*, 2009).

Kadar hematokrit mulai mengalami peningkatan kembali saat hari ke-14 pasca ujiantang sejalan dengan menurunnya infeksi bakteri *S. iniae* dimana nilai tertinggi ditunjukkan pada perlakuan E yaitu 25,67% dan nilai terendah ditunjukkan pada perlakuan A yaitu sebesar 19,83%. Peningkatan kembali kadar hematokrit ini merupakan respon pertahanan ikan terhadap perlakuan vaksin. Hal ini sependapat dengan Santika *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa peningkatan kadar hematokrit pasca ujiantang menunjukkan peningkatan sel-sel darah (leukosit dan eritrosit) dimana peningkatan faktor-faktor seluler darah ini selanjutnya akan menjadi efektor bagi peningkatan respon pertahanan spesifik (antibodi) yang lebih cepat dalam kuantitas yang memadai untuk meredakan infeksi bakteri.



Sel darah putih pada ikan berfungsi sebagai sistem pertahanan tubuh. Hasil pengamatan rata-rata total leukosit (sel/mm^3)

ikan nila sebelum vaksinasi, pasca vaksinasi dan ujiantang tersaji pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik Rata-rata Persentase Total Leukosit (sel/mm^3) Ikan Nila; Perlakuan A ($0 \text{ ng}/\mu\text{L}$); B ($10 \text{ ng}/\mu\text{L}$); C ($20 \text{ ng}/\mu\text{L}$); D ($30 \text{ ng}/\mu\text{L}$); dan E ($40 \text{ ng}/\mu\text{L}$); Ch: Challenge

Berdasarkan Gambar 2, grafik rata-rata total leukosit juga menunjukkan pola (trend) yang hampir sama antara semua perlakuan baik perlakuan ikan uji yang diberi vaksin maupun yang tidak diberi vaksin. Pada saat sebelum vaksinasi (hari ke-0) rata-rata total leukosit ikan nila normal sebesar $3,43 \times 10^4 \text{ sel}/\text{mm}^3$ dengan kisaran nilai $2,85 \times 10^4 - 4,08 \times 10^4 \text{ sel}/\text{mm}^3$.

Peningkatan total leukosit terjadi sampai minggu ke-4 masa induksi kekebalan vaksin. Total leukosit tertinggi didapatkan pada perlakuan E yaitu $10,57 \times 10^4 \text{ sel}/\text{mm}^3$ pada hari ke-28 pasca vaksinasi. Total leukosit pada perlakuan B, C, D, dan E setelah divaksinasi sampai hari ke-28 mengalami peningkatan lebih tinggi dibandingkan perlakuan A. Pemberian vaksin DNA *S. iniae* pada ikan nila dengan dosis yang berbeda pasca vaksinasi sampai hari ke-28 berpengaruh sangat nyata terhadap total leukosit. Perlakuan dosis vaksin $40 \text{ ng}/\mu\text{L}$ juga menunjukkan perbedaan dengan perlakuan dosis vaksin lainnya, dimana perlakuan dengan dosis vaksin DNA yang lebih banyak akan memicu peningkatan total leukosit yang lebih tinggi.

Peningkatan total leukosit disebabkan karena adanya proses vaksinasi. Hal ini berkaitan dengan fungsi sel darah putih sebagai alat pertahanan. Kondisi ini menunjukkan bahwa pemberian vaksin DNA bersifat imunogenik sehingga berhasil meningkatkan respon pertahanan seluler berupa peningkatan total leukosit. Menurut Tizard (1988), sifat imunogenik dari bahan vaksin pada dosis yang sesuai mampu memicu peningkatan total leukosit lebih tinggi pada ikan yang divaksinasi sehingga terjadi peningkatan kekebalan tubuh ikan. Anderson (1992) dalam Zainun (2007)

menambahkan bahwa leukosit merupakan salah satu komponen sel darah yang berfungsi sebagai pertahanan non spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminasi patogen.

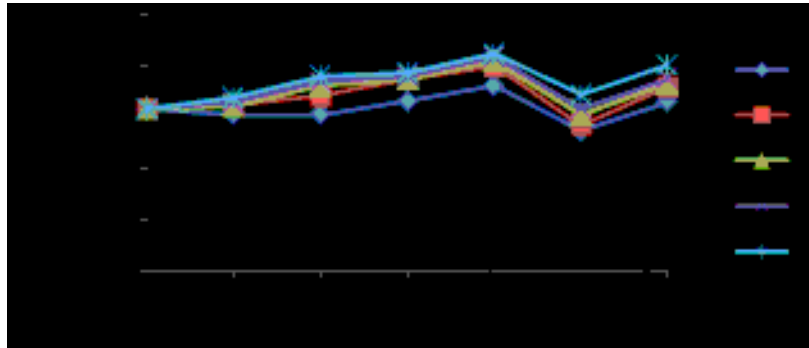
Penurunan rata-rata total leukosit terjadi setelah hari ke-7 pasca ujiantang. Penurunan yang terjadi disebabkan oleh leukosit yang ada pada pembuluh darah sangat berkurang (menurun) karena sebagian besar leukosit bergerak menuju jaringan-jaringan yang terinfeksi. Hal ini sependapat dengan Nuryati *et al.* (2010) bahwa penurunan jumlah leukosit setelah ujiantang disebabkan karena leukosit tersebut aktif dan keluar dari pembuluh darah menuju jaringan yang terinfeksi. Hal ini merupakan respon ikan dalam upaya mengenal dan mengingat kembali jenis patogen yang masuk. Peran kekebalan selanjutnya diambil alih oleh kekebalan humoral yaitu antibodi.

Pasca ujiantang minggu kedua, semua perlakuan mengalami peningkatan jumlah total leukosit. Dimana nilai tertinggi ditunjukkan pada perlakuan E yaitu $9,46 \times 10^4 \text{ sel}/\text{mm}^3$. Perlakuan E memberikan perbedaan yang sangat nyata dengan perlakuan A, B, C, dan D. Peningkatan ini mengindikasikan bahwa ikan memberikan respon tanggap kebal terhadap adanya benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Menurut Kresno (2001), peningkatan sel leukosit merupakan refleksi keberhasilan sistem imunitas ikan dalam mengembangkan respon imunitas seluler (non spesifik) sebagai pemicu untuk respon kekebalan. Suprayudi *et al.* (2006) menambahkan bahwa respon yang diberikan ikan untuk menambah daya tahan tubuhnya dengan meningkatkan jumlah leukosit yang mempunyai fungsi sebagai sel pertahanan.



Limfosit sebagai salah satu indikator pertahanan alami tubuh dan merupakan sistem kekebalan non spesifik yang dapat melindungi tubuh dari serangan mikroba, seperti bakteri *S.*

iniae. Hasil pengamatan rata-rata persentase limfosit (%) ikan nila sebelum vaksinasi, pasca vaksinasi dan uji tantang tersaji pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik Rata-rata Persentase Limfosit (%) Ikan Nila; Perlakuan A (0 $\eta\text{g}/\mu\text{L}$); B (10 $\eta\text{g}/\mu\text{L}$); C (20 $\eta\text{g}/\mu\text{L}$); D (30 $\eta\text{g}/\mu\text{L}$); dan E (40 $\eta\text{g}/\mu\text{L}$); Ch: Challenge

Grafik rata-rata persentase limfosit menunjukkan pola yang sama antara semua perlakuan baik perlakuan ikan uji yang diberi vaksin maupun ikan yang tidak diberi vaksin. Rata-rata persentase limfosit ikan nila normal sebesar 63,13% dengan kisaran nilai 60 – 67%. Persentase limfosit ikan nila normal dalam penelitian Hardi (2011) menunjukkan hasil yang berbeda yaitu 68-86%.

Peningkatan yang fluktuatif terjadi di setiap minggu pemeliharaan pasca vaksinasi pada semua perlakuan A, B, C, D, dan E. Persentase limfosit tertinggi didapatkan pada perlakuan E yaitu 84,67% pada hari ke-28 setelah vaksinasi dimana nilai ini mengalami peningkatan sekitar 21,5% dibandingkan hari ke-0. Pemberian vaksin DNA *S. iniae* sampai masa induksi kekebalan hari ke-28 berpengaruh sangat nyata terhadap persentase limfosit. Persentase jumlah limfosit pada kelompok perlakuan vaksin terutama pada perlakuan E baik pasca vaksinasi maupun uji tantang menunjukkan bahwa mekanisme pertahanan tubuh akibat dari penambahan vaksin DNA sebagai pemicu imunitas pada ikan nila. Perlakuan A tetap terjadi mekanisme tersebut karena ikan telah memiliki kekebalan tubuh alami yang sudah ada sejak lahir.

Menurut Mundriyanto *et al.* (2002), mekanisme kerja limfosit dalam peranannya untuk sistem kekebalan tubuh berfungsi menyediakan zat kebal untuk pertahanan tubuh dengan cara mengenali antigen melalui reseptor spesifik pada membran sel. Pada limfosit T, ketika tubuh atau jaringan terpapar oleh antigen, maka limfosit T tidak mampu mengenal antigen tersebut sendirian tanpa melalui reseptor

spesifik. Dengan adanya sel reseptor spesifik ini memungkinkan sel T lebih cepat mengenali antigen yang ada sehingga langsung memberikan reaksi kekebalan dan menstimulasi sel B untuk mengeluarkan antibodi. Pemberian vaksin DNA akan menstimulir proses produksi lisozim dan komplemen yang akan mengaktifkan limfosit B untuk berdiferensiasi sehingga akan lebih aktif dalam memproduksi antibodi spesifik.

Pasca uji tantang hari ke-7 mengalami penurunan rata-rata 16-22% dari masa induksi kekebalan minggu ke-4 pada semua perlakuan baik pada perlakuan ikan uji yang diberi vaksin maupun ikan uji yang tidak diberi vaksin. Hal ini disebabkan karena antibodi yang terbentuk digunakan untuk menyerang bakteri *S. iniae*. Peningkatan aktivitas perlawanan tersebut menyebabkan pengurangan sel limfosit. Hal ini sesuai dengan Rustikawati (2012) yang berpendapat bahwa adanya peningkatan intensitas infeksi oleh patogen tertentu akan memicu kebutuhan sel darah putih (limfosit) dan peningkatan kebutuhan tersebut akan mengakibatkan terjadinya pengurangan sel agen penyedia zat kebal tubuh yaitu limfosit. Jain (1993) menambahkan bahwa penurunan jumlah limfosit di dalam darah perifer terjadi karena sebagian besar limfosit ditarik dari sistem sirkulasi dan berkompetisi ke dalam jaringan dimana terdapat peradangan.

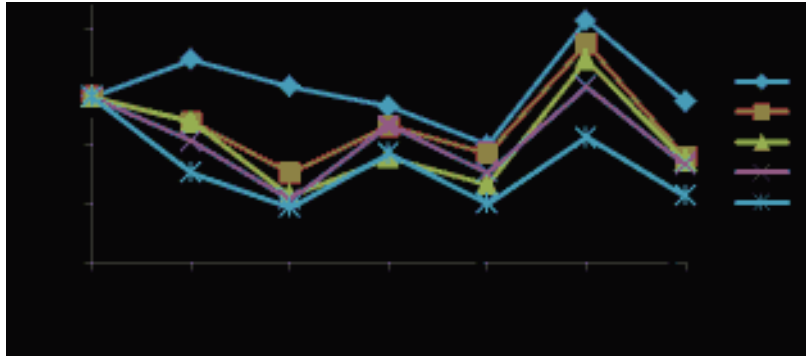
Limfosit mengalami peningkatan kembali pasca uji tantang minggu kedua dimana nilai tertinggi ditunjukkan pada perlakuan E yaitu 80,33%. Hal ini disebabkan karena pada saat akhir masa uji tantang kondisi pertahanan tubuh ikan telah membaik dan ikan telah



berhasil bertahan dari serangan bakteri *S. iniae* dimana aktivitas vaksin DNA ini mulai bekerja dalam memberikan kekebalan tubuh pada ikan.

Monosit berperan penting untuk memakan zat-zat asing yang masuk ke dalam

tubuh dan memberikan informasi tentang serangan penyakit kepada leukosit. Hasil pengamatan rata-rata persentase monosit (%) ikan nila sebelum vaksinasi, pasca vaksinasi dan ujiantang tersaji pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik Rata-rata Persentase Monosit (%) Ikan Nila; Perlakuan A (0 ng/μL); B (10 ng/μL); C (20 ng/μL); D (30 ng/μL); dan E (40 ng/μL); Ch: Challenge

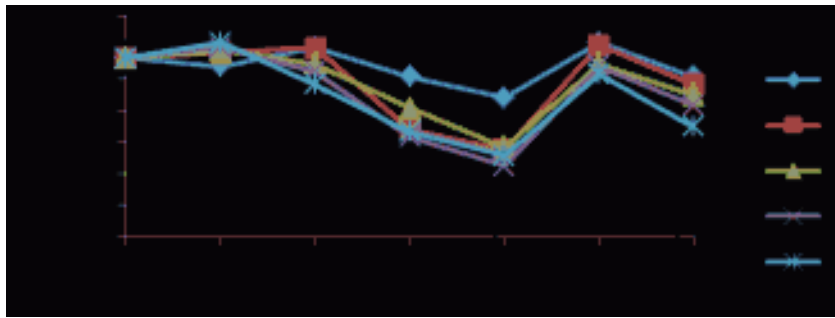
Grafik rata-rata persentase monosit menunjukkan pola yang hampir sama antara semua perlakuan. Rata-rata persentase monosit ikan nila normal sebesar 14,13%. Nilai ini sedikit berbeda dengan hasil penelitian Hardi (2011) bahwa persentase monosit ikan nila normal sebesar 3,9-5,9%. Pasca vaksinasi sampai hari ke-28 persentase monosit berkisar antara 4,67-17,33%. Persentase monosit pada saat sebelum divaksin dan saat masa vaksinasi cenderung rendah dibandingkan pada saat masa ujiantang pada semua perlakuan. Pemberian vaksin DNA *S. iniae* pada ikan nila dengan dosis yang berbeda pasca vaksinasi sampai hari ke-28 berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap persentase monosit. Hal ini berkaitan dengan fungsi monosit itu sendiri yaitu sebagai makrofag, dimana monosit tidak terlalu banyak dibutuhkan untuk memfagosit, dikarenakan belum ada infeksi yang masuk ke dalam tubuh yang merangsang produksi monosit.

Persentase monosit pada saat ujiantang minggu pertama untuk semua perlakuan A, B, C, D, dan E mengalami peningkatan antara 5-11% dari masa vaksinasi. Meningkatnya persentase monosit ini disebabkan karena ikan mengalami infeksi bakteri *S. iniae*. Infeksi yang masuk ke dalam tubuh akan merangsang sel

darah putih untuk memproduksi monosit lebih banyak. Hal ini sesuai dengan pernyataan Robert (1978) dalam Destriana (2011) yang menyatakan bahwa fungsi monosit sebagai agen makrofag yang memfagosit benda asing yang masuk ke dalam tubuh.

Affandi dan Tang (2002) menambahkan bahwa pada saat terjadi infeksi oleh benda asing, maka monosit akan bergerak cepat meninggalkan pembuluh darah menuju daerah yang terinfeksi untuk melakukan fagositosis. Monosit memiliki kemampuan menembus dinding pembuluh kapiler, kemudian masuk ke jaringan dan berdiferensiasi menjadi makrofag. Proporsi jumlah sel monosit pada akhir ujiantang minggu kedua juga mengalami penurunan, dimana nilai terbesar ditunjukkan pada perlakuan A yaitu 13,67% dan nilai terendah pada perlakuan E yaitu sebesar 5,67%, hal ini karena adanya respon keseimbangan darah terhadap peningkatan proporsi jenis sel leukosit lainnya yaitu limfosit dan neutrofil.

Neutrofil merupakan jenis sel darah putih yang juga berperan dalam mekanisme pertahanan tubuh. Hasil pengamatan rata-rata persentase neutrofil (%) ikan nila sebelum vaksinasi, pasca vaksinasi dan ujiantang tersaji pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik Rata-rata Persentase Neutrofil (%) Ikan Nila; Perlakuan A (0 ng/μL); B (10 ng/μL); C (20 ng/μL); D (30 ng/μL); dan E (40 ng/μL); Ch: Challenge

Berdasarkan Gambar 5, grafik rata-rata persentase neutrofil juga menunjukkan pola yang sama antara semua perlakuan baik perlakuan ikan uji yang diberi vaksin maupun ikan yang tidak diberi vaksin. Rata-rata persentase neutrofil ikan nila normal sebesar 22,73%. Nilai ini sedikit berbeda dengan hasil penelitian Hardi (2011) bahwa persentase neutrofil ikan nila normal sebesar 10-18,1%. Penurunan persentase neutrofil terjadi sampai minggu ke-4 vaksinasi. Pemberian vaksin DNA *S. iniae* pada ikan nila dengan dosis yang berbeda pasca vaksinasi sampai hari ke-28 berpengaruh nyata terhadap persentase neutrofil.

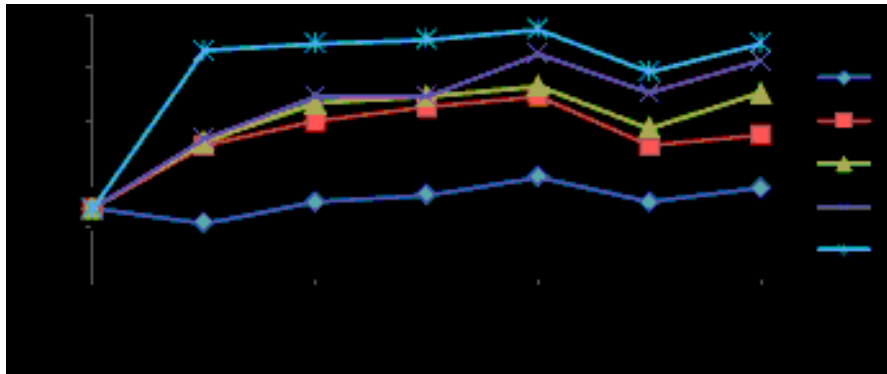
Peningkatan persentase neutrofil terjadi pada hari ke-7 pasca uji tantang dengan peningkatan rata-rata berkisar 7-13% pada semua perlakuan. Peningkatan jumlah sel neutrofil ikan uji pada semua perlakuan (A, B, C, D, dan E) menunjukkan adanya aktivitas sel neutrofil dalam mencapai dan menyerang antigen (partikel asing) yang masuk ke dalam tubuh yang menunjukkan terjadinya proses fagositosis. Peningkatan jumlah neutrofil merupakan akibat dari mekanisme kekebalan tubuh yang bekerja sebagai respon adanya infeksi dalam tubuh. Menurut Tizard (1988), hal ini berkaitan dengan fungsi utama neutrofil yaitu penghancuran bahan asing melalui proses fagositosis yaitu kemotaksis dimana sel akan bermigrasi menuju partikel, pelekatan partikel pada sel, penelanan partikel oleh sel, dan penghancuran partikel oleh enzim lisosim di dalam fagolisosom.

Peningkatan aktivitas pergerakan sel neutrofil disebabkan karena distimulasi oleh adanya vaksin DNA *S. iniae* yang bersifat imunogenik, sehingga aktivitas produksi oleh organ pembentuk sel tersebut semakin meningkat. Hal ini sesuai dengan pendapat

Fujaya (2004) bahwa keluarnya sel neutrofil dari pembuluh darah pada saat terjadinya infeksi disebabkan oleh adanya pengaruh rangsangan kimiawi eksternal atau kemotaksis diantaranya distimulasi oleh bahan vaksin. Delman dan Brown (1989) dalam Rustikawati (2012) juga menambahkan bahwa peningkatan jumlah sel neutrofil juga mengindikasikan adanya peningkatan kegiatan pengumpulan makrofag di tempat terjadinya infeksi, sehingga makrofag akan lebih mudah untuk menghancurkan partikel asing.

Persentase sel neutrofil pada akhir uji tantang kembali mengalami penurunan. Rata-rata jumlah sel neutrophil pasca uji tantang hari ke-14 sebesar 14%. Penurunan jumlah sel neutrofil ini disebabkan karena berkurangnya infeksi akibat aktivitas serangan bakteri. Hal ini sesuai dengan pendapat Jain (1993) bahwa setelah proses infeksi jumlah sel neutrofil dapat ditekan, sel-sel mati dan jaringan nekrotik yang salah satunya mengandung neutrofil yang telah mati secara bertahap akan mengalami lisis dalam beberapa hari. Pasca uji tantang minggu kedua, pemberian vaksin DNA *S. iniae* dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$), diketahui bahwa terdapat perbedaan antara perlakuan E dengan perlakuan A, B, dan C, namun tidak terdapat adanya perbedaan dengan perlakuan D. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian vaksin DNA dengan dosis 40 ng/μL berpengaruh terhadap persentase neutrofil ikan nila.

Fagositosis merupakan proses penyerapan dan eliminasi mikroba atau partikel lain oleh sel-sel fagosit yaitu sel monosit dan neutrofil. Hasil pengamatan rata-rata persentase indeks fagositosis (%) pada ikan nila sebelum vaksinasi, pasca vaksinasi dan uji tantang tersaji pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik Rata-rata Persentase Indeks Fagositosis (%) Ikan Nila; Perlakuan A (0 ng/μL); B (10 ng/μL); C (20 ng/μL); D (30 ng/μL); dan E (40 ng/μL); Ch: Challenge

Grafik rata-rata persentase indeks fagositosis menunjukkan pola yang hampir sama antara semua perlakuan. Rata-rata indeks fagositosis ikan normal sebesar 6,73% dengan kisaran nilai terendah sebesar 4% dan nilai tertinggi sebesar 10%. Peningkatan yang fluktuatif terjadi di setiap minggu pemeliharaan pasca vaksinasi pada semua perlakuan A, B, C, D, dan E. Ikan uji yang diberi vaksin DNA *S. iniae* terlihat mengalami peningkatan indeks fagositosis lebih tinggi dibandingkan perlakuan A (Gambar 6). Pemberian vaksin DNA yang semakin banyak mampu meningkatkan indeks fagositosis yang lebih tinggi sehingga mampu memproduksi antibodi yang lebih banyak.

Pemberian vaksin DNA *S. iniae* pada ikan nila setelah divaksinasi selama 30 hari memberikan pengaruh sangat nyata. Semua dosis vaksin pada perlakuan B, C, D, dan E menunjukkan adanya perbedaan dengan perlakuan A. Nilai indeks fagositosis yang tinggi diperlihatkan pada perlakuan E sebesar 23,67%. Hal ini menunjukkan bahwa vaksin DNA *S. iniae* pada perlakuan E bersifat lebih imunogenik sehingga mampu meningkatkan persentase indeks fagositosis. Peningkatan nilai indeks fagositosis menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kekebalan tubuh ikan. Menurut Tizard (1988), aktivitas fagositosis merupakan pertahanan pertama dari respon seluler yang dilakukan oleh monosit (makrofag) dan granulosit (neutrofil). Amrullah (2004) menambahkan bahwa peningkatan kekebalan tubuh ikan dapat diketahui dari peningkatan aktivitas sel fagosit dari darah.

Pasca uji tantang hari ke-7 semua perlakuan baik ikan uji yang tidak divaksin maupun yang diberi vaksin mengalami penurunan rata-rata indeks fagositosis sebesar 2-4% dari masa induksi kekebalan minggu ke-4

pada semua perlakuan. Penurunan ini menggambarkan bahwa terjadi adanya infeksi bakteri *S. iniae* dan rendahnya produksi antibodi. Terjadinya penekanan respon antibodi ini menyebabkan ikan tidak mampu melangsungkan respon imun seluler dan humoral dalam membangkitkan respon imun.

Pasca uji tantang hari ke-14, proses penginfeksi bakteri *S. iniae* mulai menurun. Hal ini memperlihatkan pada semua perlakuan mengalami peningkatan indeks fagositosis kembali dimana nilai tertinggi ditunjukkan pada perlakuan E yaitu 22,33% dan nilai terendah ditunjukkan pada perlakuan A yaitu sebesar 8,67%. Pemberian vaksin DNA *S. iniae* dengan dosis yang berbeda pasca uji tantang minggu kedua juga berpengaruh sangat nyata ($P < 0,05$ dan $P < 0,01$) terhadap persentase indeks fagositosis dimana terdapat perbedaan yang sangat nyata antara perlakuan E dengan perlakuan A, B, dan C namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan D.

Menurut Amrullah (2004), pola peningkatan kembali nilai indeks fagositosis disebabkan naiknya persentase jenis sel leukosit masing-masing pada limfosit, monosit, dan neutrofil. Kresno (2001) menjelaskan bahwa limfosit yang teraktivasi akan berdiferensiasi dari sel kognitif yang mengenali antigen menjadi sel efektor yang berfungsi menyingkirkan antigen. Sel T-sitolitik yang berdiferensiasi mempunyai granula sitoplasmik lebih banyak yang mengandung protein yang berfungsi melisis sel sasaran. Limfosit B berdiferensiasi menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi.

Hasil pengamatan gejala klinis ikan nila yang diinfeksi bakteri *S. iniae* menunjukkan bahwa gejala klinis mulai terlihat saat 48 jam pasca uji tantang. Ikan nila pada perlakuan B, C,



dan D juga menunjukkan respon pakan berkurang dan pola berenang yang tidak aktif sampai hari ke-6. Tingkah laku dan respon pakan yang masih baik diperlihatkan ikan nila uji pada perlakuan E sampai hari ke-4 pasca uji tantang. Gejala klinis yang timbul ditandai dengan perubahan tingkah laku serta morfologi ikan. Perubahan tingkah laku mulai terlihat bahwa ikan sudah mulai stres ditandai dengan nafsu makan berkurang, ikan cenderung agresif dengan sirip punggung mengembang, berenang lemah di dasar akuarium, dan berenang berputar-putar tidak seimbang.

Streptococcus memproduksi beberapa jenis toksin protein dan enzim yang mampu membunuh atau menghancurkan susunan sel inang yang memungkinkan bakteri

memanfaatkan nutrisi inang untuk berkembang biak. *Streptococcus* sp. menghasilkan toksin hemolisin yang mampu melisis sel darah merah dan membebaskan hemoglobinya. Hal ini menyebabkan penurunan respon nafsu makan, berenang tidak beraturan, dan perubahan warna kulit akibat infeksi bakteri patogen (Hardi, 2011; Sheehan *et al.*, 2009). Inglis *et al.* (1993) menambahkan bahwa perubahan tingkah laku ikan dapat dipicu karena adanya stressor. Pada penelitian ini stressor penyebab perubahan tingkah laku ikan adalah bakteri *S. iniae* yang dimasukkan ke dalam tubuh ikan. *S. iniae* merupakan agen patogen yang dapat menginfeksi dan menimbulkan stres. Perubahan tingkah laku ikan pasca uji tantang bakteri *S. iniae* selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perubahan Tingkah Laku Ikan Nila Pasca Uji Tantang Bakteri *S. iniae*

Hari ke-	Perlakuan														
	A			B			C			D			E		
	Ulangan ke-														
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-4	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
5-6	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+
7-8	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
9-10	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11-12	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	-	+	+	-	-
13-14	++	++	++	++	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-

Keterangan: ++ = Respon terhadap pakan kurang, Ikan berenang beputar-putar tidak seimbang (*whirling*), agresif (sirip punggung mengembang), berenang lemah di dasar air
 + = Respon terhadap pakan kurang, Ikan berenang normal tetapi tidak terlalu aktif
 - = Respon terhadap pakan normal, Ikan berenang aktif

Perubahan tingkah laku ini lalu disusul terjadinya perubahan morfologi sampai kerusakan kondisi tubuh ikan pasca infeksi *S. iniae*. Gejala klinis yang mulai tampak adalah timbul adanya garis hitam pada tubuh ikan (melanosis). Pengamatan gejala klinis lainnya yaitu perubahan pada organ mata seperti pembengkakan mata (*exophthalmia*), kekeruhan mata (*opacity*), mata putih (*purulens*), dan mata

lisis. Kerusakan kondisi tubuh ikan yang terjadi akibat infeksi *S. iniae* diantaranya adalah sirip geripis, sisik lepas, tubuh berbentuk huruf "C", dan perut cembung. Perlakuan A yaitu ikan yang tidak divaksin menimbulkan gejala klinis yang lebih cepat dibandingkan perlakuan ikan yang divaksin. Perubahan morfologi ikan nila pasca uji tantang bakteri *S. iniae* selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perubahan Morfologi Ikan Nila Pasca Uji Tantang Bakteri *S. iniae*

Hari ke-	Perlakuan														
	A			B			C			D			E		
	Ulangan ke-														
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5-6	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
7-8	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
9-10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++



11-12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
13-14	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

Keterangan: + = Ada perubahan dan kerusakan pada tubuh ikan (melanosis, sirip geripis, sisik lepas, tubuh berbentuk huruf “C”, dan perut cembung)
 ++ = Perubahan pada organ mata (*exophthalmia*, kekeruhan mata, mata putih, dan mata lisis)
 +++ = Ada kerusakan tubuh dan organ mata
 - = Permukaan tubuh normal

Supriyadi *et. al* (2002) menyatakan bahwa gejala klinis ikan Tilapia yang terinfeksi *S. iniae* adalah berenang berputar-putar (*swimming spinning*), warna tubuh menjadi gelap dan berenang lemah. Menurut Supriyadi dan Gardenia (2010), gejala klinis yang sering diamati pada ikan nila yang terinfeksi *Streptococcus* sp. meliputi warna ikan menjadi gelap, *exophthalmia*, mata putih, perut cekung, namun kadang-kadang cembung. Shoemaker *et*

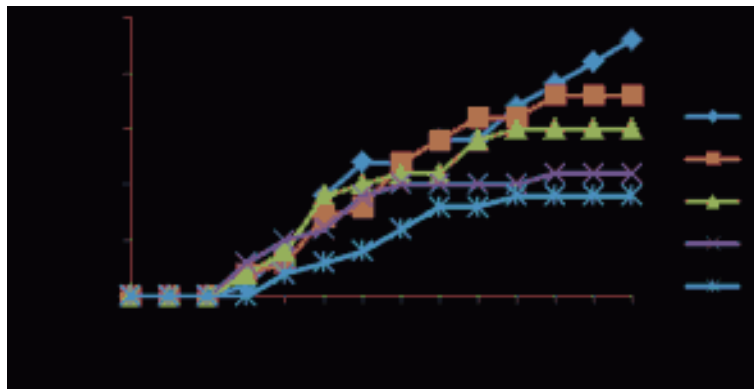
al. (2004) menambahkan bahwa gejala yang muncul pada mata ikan yang terinfeksi *S. iniae* adalah *opacity* dan *purulens*, namun dapat juga menyebabkan mata lisis. Perlakuan A yaitu ikan yang tidak divaksin juga menimbulkan gejala klinis yang lebih cepat dibandingkan perlakuan ikan yang divaksin. Hasil pengamatan mortalitas harian dan rata-rata nilai kelangsungan hidup ikan nila pasca uji tantang bakteri *S. iniae* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-Rata Mortalitas (ekor) dan Kelangsungan Hidup (%) Ikan Nila Pasca Uji Tantang

P	Mortalitas Ikan Nila Pengamatan Hari Ke-														Total	SR (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
A	0	0	0	1	3	5	3	0	2	0	3	2	2	2	23	23,33 ^a
B	0	0	0	2	1	4	1	4	2	2	0	2	0	0	18	40 ^{ab}
C	0	0	0	2	2	5	1	1	0	3	1	0	0	0	15	50 ^{bc}
D	0	0	0	3	2	1	3	1	0	0	0	1	0	0	11	63,33 ^{bc}
E	0	0	0	0	2	1	1	2	2	0	1	0	0	0	9	70 ^c

Kematian ikan nila mulai muncul pada hari ke-4 pasca uji tantang bakteri *S. iniae*.

Grafik pola kematian ikan nila kumulatif selengkapnya tersaji pada Gambar 7.



Gambar 7. Grafik Pola Kematian Kumulatif Ikan Nila Pasca Uji Tantang Bakteri *S.iniae*

Mortalitas ikan nila tertinggi pasca uji tantang ditunjukkan pada perlakuan A yaitu ikan yang tidak diberi vaksin DNA, sehingga perlakuan A (0 ng/μL) mempunyai tingkat kelangsungan hidup terendah yaitu sebesar 23,33%, sedangkan tingkat kelangsungan hidup ikan nila tertinggi pada akhir penelitian adalah perlakuan E (dosis vaksin 40 ng/μL) yaitu 70%. Rendahnya tingkat kelangsungan hidup ikan

pada perlakuan A mengindikasikan bahwa kekebalan alami yang terdapat dalam tubuh ikan tersebut rendah. Hal ini terjadi karena ikan pada perlakuan A kekebalan alami tubuhnya tidak distimulasi oleh pemberian vaksin DNA sehingga ikan tersebut tidak mampu melawan serangan bakteri *S. iniae*.

Pemberian vaksin DNA *S. iniae* dengan dosis yang berbeda berpengaruh nyata ($P<0,05$)



terhadap tingkat kelangsungan hidup pada ikan nila. Tingginya tingkat kelangsungan hidup ikan yang diuji tantang setelah diberi vaksin DNA *S. iniae* pada perlakuan E menunjukkan bahwa dosis vaksin yang diberikan telah mencukupi untuk pembentukan antibodi yang dapat melawan serangan bakteri yang diinfeksi. Sugiani (2004) menyatakan bahwa terdapat hubungan langsung antara jumlah antigen yang diberikan dengan respon kekebalan, dengan penambahan dosis dapat meningkatkan aglutinasi maksimal.

Tingginya tingkat kelangsungan hidup ikan yang diberi vaksin DNA *S. iniae* menunjukkan bahwa kemampuan untuk bertahan hidup pada ikan yang telah divaksinasi lebih baik daripada ikan yang tidak diberi vaksin (perlakuan A). Hal ini disebabkan karena di dalam tubuh ikan yang diberi vaksin telah terbentuk respon imun (tanggap kebal). Respon imun dapat melindungi ikan dari serangan penyakit akibat infeksi bakteri *S. iniae*, sedangkan pada ikan yang tidak diberi vaksin respon imun tidak terbentuk secara maksimal sehingga lebih rentan terhadap serangan bakteri *S. iniae*. Respon yang timbul dari hasil vaksinasi dapat melindungi ikan dari serangan penyakit infeksi bakteri yang sama karena tanggap kebal yang timbul dari hasil vaksinasi bersifat spesifik.

KESIMPULAN

Pemberian vaksin DNA *S. iniae* dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata terhadap respon hematologis ikan Nila serta memberikan pengaruh terhadap kadar hematokrit, total leukosit, diferensial leukosit, dan indeks fagositosis pada ikan Nila setelah diinfeksi bakteri *S. iniae*. Dosis vaksin DNA *S. iniae* yang terbaik untuk meningkatkan imunitas pada ikan Nila terhadap infeksi bakteri *S. iniae* 40 ng/μL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada seluruh staf Laboratorium Kesehatan Ikan, Balai Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar (BBPBAT) Sukabumi, Laboratorium Teknologi Produksi Pertanian Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) Serpong, Laboratorium Loka Pemeriksaan Penyakit Ikan dan Lingkungan (LPPIL) Serang, bapak Ciptoroso dan bapak A.H. Condro Haditomo yang telah membantu kelancaran penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandi, R. dan Tang, U. M. 2002. Fisiologi Hewan Air. Universitas Riau Press. Riau. 217 hlm.
- Anderson, D.P. and Siwicki, A.K. 1993. Basic Hematology and Serology for Fish Health Program. Paper Presented in Second Symposium on Diseases in Asian Aquaculture "Aquatic Animal Health and The Environment" Phuket. Thailand. 25-29 Oct 1993. 17 p.
- Amrullah. 2004. Penggunaan Imunostimulan *Spirulina platensis* untuk Meningkatkan Ketahanan Tubuh Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) Terhadap Virus Herpes. [Tesis]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 51 hlm.
- Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W. 1973. Routine haematological Methods for Use with Fish Blood. Journal of Fish Biology 5, (6): 771-781.
- Dana, D., Nur, dan Sukenda. 2004. Ketahanan Benih Ikan Nila Gift (*Oreochromis niloticus* LINN.) dari Hasil Induk yang Diberi Vaksin Terhadap Infeksi Buatan *Streptococcus iniae*. Jurnal Akuakultur Indonesia, 3 (1): 37-43.
- Destriana, Y. 2011. Uji Efektivitas Lidah Buaya (*Aloe vera*) Melalui Pakan Komersil Sebagai Imunostimulan pada Benih Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Terhadap Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. [Skripsi]. Program Studi Perikanan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjadjaran. Bandung. 78hlm.
- Faizal, I. 2010. Pengembangan Produksi Vaksin DNA *Streptococcus iniae* untuk Pencegahan Penyakit *Streptococcus* pada Ikan Nila. [Laporan Penelitian]. Bidang Ketahanan Pangan. Teknologi Peningkatan Keamanan Pangan. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi. Jakarta. 43 hlm.
- Fujaya, Y. 2004. Fisiologi Ikan: Dasar Pengembangan Teknologi Perikanan. Rineka Cipta. Jakarta. 179 hlm.
- Hardi, E. H. 2011. Kandidat Vaksin Potensial *Streptococcus agalactiae* untuk Pencegahan Penyakit *Streptococcus*



- pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*. [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 162 hlm.
- Hedrick, R. P., Gilad, O., Yun, S. C., Spangerberg, J. V., Marty, G. D., Nordhausen, R. W., Kebus, M. J., Bercovier, H., and Eldar, A. 2000. A Herpes Virus Associated with Mass Mortality of Juvenile and Adult Koi, A Stain of Common Carp. American Fisheries Society. Journal of Aquatic Animal Health, 12: 44-57.
- Inglis, V., Roberts, R.J., and Bromage, N.R. 1993. Bacterial Diseases of Fish. Institute of Aquaculture. Blackwell Science. 196 – 210 p.
- Jain, N. C. 1993. Essentials of Veterinary Hematology. Lea and Febiger Publishing. Philadelphia. 417 p.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2013. Statistik Menakar Target Ikan Air Tawar Tahun 2013. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Jakarta. Diakses dari www.djpb.kkp.go.id (2 Juni 2013).
- Kresno, S. B. 2001. Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Edisi Ketiga. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta. 437 hlm.
- Mundriyanto, H., Taufik, P., dan Tauhid. 2002. Respon Histologis Tubuh Kodok (*Rana catesbeiana* Shaw) Terhadap Infeksi Bakteri Patogen dan Potensi *Saccharomyces cerevisiae* Sebagai Immunostimulan. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia, 8 (3): 53-63.
- Nuryati, S., Maswan, N. A., Alimuddin, Sukenda, Sumantadinata, K., Pasaribu, F. H., Soejoedono, R. D., dan Santika, A. 2010. Gambaran Darah Ikan Mas Setelah Divaksinasi dengan Vaksin DNA dan Diuji Tantang dengan Koi Herpes Virus. Jurnal Akuakultur Indonesia, 9 (1): 9-15.
- Parelberg, A., Ronen, A., Hutoran, M., Smith, Y. and Kotler, M. 2005. Protection of Cultured *Cyprinus carpio* Disease by an Attenuated Virus Vaccine. *J. Vaccine*, 23: 3396-3403.
- Purwanto, A. 2006. Gambaran Darah Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Terinfeksi Koi Herpes Virus. [Skripsi]. Program Studi Teknologi dan Manajemen Akuakultur. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 35 hlm.
- Rustikawati, I. 2012. Efektivitas Ekstrak Sargassum sp. Terhadap Diferensiasi Leukosit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi *Streptococcus iniae*. Jurnal Akuatika, III (2): 125-134.
- Santika, A., Ciptoroso, Zainun, Z., Sumarjo, Suroso. 2009. Peningkatan Daya Tahan Tubuh Ikan Mas Terhadap Infeksi Koi Herpes Virus (KHV) Melalui Teknik Vaksinasi (Uji Lapang). Laporan Tinjauan Hasil BBP BAT. Sukabumi. 134-148.
- Sheehan, B., Labrie, L., Lee, Y.S., Wong, F.S., Chan, J., Wendover, N. and Grisez, L. 2009. *Streptococcosis* in tilapia, Vaccination Effective Against, Main Strep Species. Global Aquaculture Alliance, Singapore. 72-74 p.
- Shoemaker, C.A., Klesius, P.H., Evans, J.J. 2004. Prevalence of and Vaccination Against *Streptococcus iniae*. Proceedings of 5th International Conference on Recirculating Aquaculture. 86-94 p.
- Sugiani, D. 2004. *Streptococcus* spp: Karakteristik, Virulensi, dan Immunogenisitas pada Ikan Tilapia (*Oreochromis niloticus*). [Tesis]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 79 hlm.
- Suprayudi, M. A., Indriastuti, L., dan Setiawati, M. 2006. Pengaruh Penambahan Bahan-Bahan Immunostimulan dalam Formulasi Pakan Buatan Terhadap Respon Imunitas dan Pertumbuhan Ikan Kerapu Bebek, *Cromileptes altivelis*. Jurnal Akuakultur Indonesia, 5 (1): 77-86.
- Supriyadi, H., Effendie, J., dan Bastiawan, D. 2002. Penyebaran Penyakit Streptococcosis pada Beberapa Pusat Budidaya Ikan Air Tawar. [Laporan teknis]. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar. Bogor. 1-6.



- Supriyadi, H., Widiyati, A., Sunarto, A., dan Prihadi, T. H. 2005. Keragaan Penyakit Bakterial Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) pada Keramba Jaring Apung (KJA) di Lokasi Berbeda. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 11 (7): 35-41.
- Supriyadi, H. dan Gardenia, L. 2010. Streptococcosis pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Budidaya di Danau Maninjau. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur 2010*. Pusat Riset Perikanan Budidaya. Jakarta. 905-910.
- Tizard, I. R. 1988. *Pengantar Imunologi Veteriner*. Ed. 2. Penerbit Universitas Airlangga. Surabaya. 497 hlm. (diterjemahkan oleh Partodirejo, M dan Hardjosworo, S.).
- Zainun, Z. 2007. Pengamatan Parameter Hematologis pada Ikan Mas yang Diberi Immunostimulan. *Buletin Teknisi Litkayasa Akuakultur* 6 (1): 45-48.