

Efikasi Vaksinasi pada Benih Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Metode Infiltrasi Hiperosmotik untuk Mencegah Infeksi *Streptococcus agalactiae*

*(THE EFFICACY OF VACCINATION ON TILAPIA SEEDS OF (*Oreochromis niloticus*) USING HYPEROSMOTIC INFILTRATION METHOD TO PREVENT *Streptococcus agalactiae* INFECTION)*

Amalia Putri Firdausi^{1*}, Sukenda¹, Sri Nuryati¹

¹Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Institut Pertanian Bogor,
Jl. Agatis, Kampus IPB, Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16680
telepon: (0251) 8628755, faks: (0251) 8628755,
*Email : amaliafirdausi.ipb@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas vaksinasi pada benih ikan nila hasil dari induk yang divaksinasi dengan metode infiltrasi hiperosmotik pada empat salinitas yang berbeda untuk mencegah infeksi bakteri *Streptococcus agalactiae*. Sebanyak 100 ekor benih yang berumur 20 hari yang berasal dari induk yang divaksinasi direndam di empat salinitas yang berbeda, yaitu: 0, 10, 20, dan 30 ppt selama lima menit, kemudian diangkat dan dipindahkan ke dalam wadah yang mengandung larutan vaksin selama 30 menit. Pemeliharaan selanjutnya dilakukan di akuarium baru berisi air tawar dan pada hari ke-10, 20, dan 30 pascavaksinasi, kinerja sistem imun diamati, meliputi *Relative Percent Survival* (RPS) setelah uji tantangan dilakukan, level antibodi spesifik, dan lisozim. Penelitian dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap dan tiga ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan salinitas 10 ppt memberikan hasil terbaik dibandingkan perlakuan salinitas lainnya dan kontrol. Nilai RPS (10 ppt) akhir berturut-turut yaitu 84,72%, 66,49%, dan 47,06% pada hari ke-10, 20, dan 30 pasca vaksinasi. Level antibodi spesifik (10 ppt) adalah 0,077, 0,078 dan 0,077 serta lisozim 0,092, 0,084, dan 0,032 berturut-turut pada hari 10, 20, dan 30 pasca vaksinasi. Nilai RPS dan level antibodi spesifik pada salinitas 10 ppt berbeda nyata ($P < 0,05$) dibandingkan perlakuan yang lain, sedangkan aktivitas lisozim perlakuan 10 ppt tidak berbeda nyata terhadap perlakuan 20 ppt. Vaksinasi secara infiltrasi hiperosmotik salinitas 10 ppt dapat memperbaiki kinerja sistem imun benih dengan memperbaiki proteksi imunitas maternal melawan infeksi *Streptococcus agalactiae*.

Kata-kata kunci: *Streptococcus agalactiae*; vaksinasi; infiltrasi hiperosmotik; ikan nila

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effectiveness of vaccination on tilapia seedlings resulted from the vaccinated parent by hyperosmotic infiltration method at four different salinity to prevent *Streptococcus agalactiae* bacterial infection. A total of 100 seeds aged 20 days from the vaccinated mother were immersed in four different salinity: 0 ppt (control), 10 ppt, 20 ppt, and 30 ppt for five minutes, then removed and transferred into vaccine-containing containers for 30 minutes. Further maintenance was performed in freshwater aquariums and at days 10, 20, and 30 post vaccination, the immune system performance: Relative Percent Survival (RPS) after the challenge test, specific antibody level, and lysozyme was observed. The study was conducted using a complete randomized design with three replications. The results showed that the 10 ppt salinity treatment gave the best results compared to the others and control. The final RPS (10 ppt) value was 84.72%, 66.49%, and 47.06%, on the 10th, 20th, and 30th days of vaccination, respectively. Specific antibody levels (10 ppt) were 0.077, 0.078, and 0.077 and lysozyme 0.092, 0.084, and 0.032 at days 10, 20, and 30 post vaccination, respectively. The value of RPS and specific antibody level at 10 ppt salinity was significantly different ($P < 0.05$) compared to the other treatments, while the lysozyme treatment activity of 10 ppt was not significantly different compared to the 20 ppt treatment. Vaccination using 10 ppt saline hyperosmotic infiltration can improve the performance of the immune system by improving maternal immune protection against *Streptococcus agalactiae* infection.

Keywords: *Streptococcus agalactiae*; vaccination; hyperosmotic infiltration; tilapia fish

PENDAHULUAN

Streptococcosis merupakan salah satu penyakit bakteriawi yang menyerang berbagai strain ikan nila, penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Streptococcus iniae*. Akhir-akhir ini *S. agalactiae* lebih sering ditemukan dengan virulensi lebih tinggi dibandingkan *S. iniae* (Sheehan *et al.*, 2009) Pengendalian penyakit streptococcosis sampai saat ini masih terus diupayakan. Salah satu upaya yang efektif untuk pencegahan penyakit tersebut adalah dengan vaksinasi induk yang dapat menyebabkan adanya transfer imunitas maternal. Transfer imunitas maternal merupakan upaya vaksinasi yang lebih menguntungkan karena dapat melindungi induk sekaligus benih yang dihasilkan terhadap agen patogen. Beberapa penelitian sudah membuktikan adanya transfer antibodi dari induk ke benih melalui telur pada beberapa ikan air tawar jenis nila (Firdausi 2014), ikan mas (Swain *et al.*, 2006), dan ikan air laut seperti zebrafish (Wang *et al.*, 2008).

Vaksinasi induk memiliki kekurangan yaitu, proteksi yang diberikan kepada anaknya hanya dapat bertahan dalam waktu singkat seiring kuning telurnya habis. Oleh karena itu, diperlukan vaksinasi ulang dengan tujuan untuk meningkatkan kinerja sistem imun benih dengan memperbaiki proteksi imunitas maternal. Jenis vaksin yang digunakan pada penelitian ini adalah vaksin gabungan antara sel utuh dan produk ekstraseluler yang sebelumnya sudah dikaji oleh Hardi *et al.* (2013) dan dapat memberikan efikasi terbaik dibandingkan vaksin sel utuh atau produk ekstraseluler saja. Menurut Evensen (2009), cara vaksinasi pada benih paling tepat dilakukan dengan cara perendaman. Akan tetapi, metode perendaman memiliki kelemahan yaitu tidak diketahuinya volume vaksin yang diserap dalam tubuh dan penyerapan vaksin yang tidak maksimal, sehingga dibutuhkan metode perendaman lain untuk memaksimalkan penyerapan vaksin.

Metode lain yang dapat dilakukan yaitu dengan cara infiltrasi hiperosmotik. Metode infiltrasi hiperosmotik ini menggunakan media perlakuan yang didesain hipertonic yaitu konsentrasi cairan lingkungan lebih tinggi dibandingkan konsentrasi cairan tubuh ikan dengan memberikan kejutan salinitas. Akibatnya, membran-membran di permukaan

tubuh terbuka dan cairan tubuh keluar kemudian digantikan dengan cairan yang mengandung vaksin. Ellis (1988) mengemukakan bahwa, vaksinasi dengan metode infiltrasi hiperosmotik dapat meningkatkan jumlah vaksin yang diserap. Jumlah salinitas yang diberikan juga memengaruhi efikasi vaksin yang diserap. Sehubungan dengan hal tersebut, maka perlu dikaji efikasi pemberian vaksin *S. agalactiae* pada benih ikan nila dengan metode infiltrasi hiperosmotik pada salinitas yang berbeda.

METODE PENELITIAN

Bakteri *Streptococcus agalactiae*

Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri patogen *S. agalactiae* koleksi dari Laboratorium Kesehatan Organisme Akuatik, Departemen Budidaya Perairan, Institut Perairan Bogor. Isolat bakteri *S. agalactiae* yang digunakan, terlebih dahulu diidentifikasi secara biokimia menggunakan API 20 strep (Biomereux).

Pemeliharaan Benih Ikan Nila

Benih ikan nila strain nirwana yang digunakan diperoleh dari pemijahan induk nila nirwana yang divaksin. Telur hasil pemijahan ditetaskan di akuarium berukuran 60 x 35 x 30 cm. Benih yang berumur tujuh hari pascamenetas dipindahkan ke dalam akuarium pemeliharaan berukuran 30 x 35 x 30 cm dan diadaptasikan dengan kondisi pemeliharaan sampai berumur 20 hari. Pakan yang digunakan adalah pakan alami berupa cacing sutra secara *ad libitum* yang dimulai pada hari ke-5 (setelah kuning telur habis) hingga hari ke-14. Larva yang berumur di atas 14 hari diberi pakan komersial isoprotein secara *ad satiation*. Cara pemeliharaan dan pemberian pakan ikan nila mengikuti SNI 6139: 2009 produksi ikan nila hitam (*Oreochromis niloticus* Bleeker) kelas induk pokok.

Pembuatan Vaksin

Vaksin yang digunakan adalah vaksin gabungan antara sel utuh dan produk ekstraseluler dengan perbandingan 1:1 (Hardi *et al.*, 2013). Pembuatan vaksin sel utuh yaitu isolat bakteri *S. agalactiae* pada media agar miring diambil sebanyak satu ose dan dikultur dalam media *brain heart infusion broth* (BHIB, Oxoid, UK) sebanyak 50 mL secara aseptik, kemudian diinkubasi pada penangas air (*water*

bath shaker) suhu 29-30°C kecepatan 140 rpm selama 24 jam. Biakan bakteri sebanyak 50 mL dimasukkan ke dalam 450 mL BHIB dan diinkubasi dalam penangas air suhu 29-30°C kecepatan 140 rpm selama 72 jam. Setelah 72 jam, kepadatan bakteri mencapai $3,54 \times 10^{11}$ CFU/mL. Biakan bakteri selanjutnya diinaktivasi menggunakan *neutral buffer formalin* sebanyak 3% dari volume biakan dan diinkubasi selama 24 jam. Bakteri kemudian dipanen dengan cara disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4°C selama 30 menit. Vaksin sel utuh diperoleh dengan mengambil endapan pellet bakteri, kemudian dicuci menggunakan 500 mL *phosphate buffers saline* (PBS) sebanyak dua kali. Vaksin yang telah jadi diuji viabilitasnya, jika bakteri tidak tumbuh dalam waktu 48 jam maka vaksin aman untuk digunakan.

Pembuatan vaksin produk ekstraseluler yaitu isolat bakteri *S. agalctiae* pada media agar miring diambil sebanyak satu ose dan dikultur dalam media BHIB sebanyak 50 mL secara aseptik, kemudian diinkubasi pada penangas air suhu 29-30°C kecepatan 140 rpm selama 24 jam. Biakan bakteri sebanyak 50 mL dimasukkan ke dalam 450 mL BHIB dan diinkubasi dalam penangas air suhu 29-30°C kecepatan 140 rpm selama 72 jam. Biakan bakteri selanjutnya diinaktivasi menggunakan *neutral buffer formalin* 3% dari volume biakan dan diinkubasi selama 24 jam. Bakteri kemudian dipanen dengan cara disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4°C selama 30 menit. Vaksin produk ekstraseluler diperoleh dengan menyaring supernatant dengan filter saring 0,22 μm . Vaksin produk ekstraseluler diuji keamanannya dengan cara disuntikkan pada lima ekor ikan nila dan dilihat perkembangannya selama 72 jam. Apabila hingga jam ke-72 tidak muncul kematian dan gejala streptococcosis, maka vaksin produk ekstraseluler aman untuk digunakan. Vaksin sel utuh dan produk ekstraseluler disimpan dalam suhu 4°C sampai digunakan.

Vaksinasi Benih Ikan Nila

Vaksinasi benih dilakukan dengan menggunakan metode infiltrasi hiperosmotik. Sebelum vaksinasi, disiapkan terlebih dahulu media bersalinitas. Media bersalinitas dibuat dengan cara melarutkan garam *krosok* ke dalam air tawar sesuai takaran. Sebanyak 100 ekor

ikan nila berumur 20 hari dengan ukuran $0,16 \pm 0,021$ g direndam dalam media bersalinitas 0, 10, 20, dan 30 ppt selama lima menit dengan padat tebar 100 ekor/L. Setelah lima menit, ikan dipindahkan dalam larutan vaksin berdosisi 10^9 CFU/mL selama 30 menit dengan padat tebar 100 ekor/L, kemudian benih dikembalikan ke media air pemeliharaan.

Uji Tantang Benih Ikan Nila

Efikasi vaksin dapat diketahui dengan melakukan uji tantang terhadap benih dari induk yang divaksin pada hari ke-10, 20, dan 30 pascavaksinasi. Konsentrasi bakteri yang digunakan pada uji tantang adalah 10^7 CFU/mL. Ikan direndam dalam media dengan larutan bakteri patogen *S. agalctiae* selama 30 menit, selanjutnya dipindahkan kembali ke media pemeliharaan. Tingkat kematian diamati selama 14 hari. Jumlah benih yang diuji tantang sebanyak 20 ekor pada setiap wadah.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari lima perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah benih yang tidak divaksin dan diuji tantang (kontrol), benih yang divaksin dengan perendaman vaksin pada empat salinitas berbeda yaitu: 0 ppt, 10 ppt, 20 ppt, dan 30 ppt kemudian diuji tantang. Parameter imunologis yang diamati meliputi level antibodi, lisozim, dan *relative percent survival* (RPS).

Parameter Uji

Level antibodi benih hasil dari induk yang divaksin menggunakan metode *enzyme linked immunosorbent assay*/ELISA (Shelby *et al.*, 2002). Pengujian aktivitas lisozim benih hasil dari induk yang divaksin menggunakan metode ELISA (Ellis, 1990). *Relative percent survival* (RPS) benih dapat dihitung menggunakan rumus Amend (1981).

Analisis Data

Data yang diperoleh ditabulasi dengan program MS. Office Exel 2007. Data RPS, level antibodi, dan lisozim secara statistika dianalisis dengan sidik ragam dengan tingkat kepercayaan 95%, jika berpengaruh nyata dilanjutkan dengan uji Duncan menggunakan program SPSS 18.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Relative Percent Survival

Relative percent survival (RPS) merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk mengukur efikasi vaksin melalui ujiantang menggunakan bakteri patogen *S. agalctiae* pada benih ikan berumur 10, 20, dan 30 hari pasca vaksinasi. Nilai RPS sangat dipengaruhi oleh tingkat kematian benih perlakuan dan kontrol. Secara keseluruhan, nilai rata-rata tingkat kematian perlakuan vaksin lebih rendah dibandingkan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa vaksinasi yang diberikan dapat menurunkan angka kematian larva setelah diuji tantang dibandingkan dengan kontrol. Rendahnya tingkat kematian ini disebabkan karena vaksinasi dapat menginduksi antibodi (respons imun spesifik) dan lisozim (respons imun non spesifik).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai RPS pada perlakuan 10 ppt memberikan hasil terbaik ($P < 0,05$) dibandingkan perlakuan salinitas 0 ppt, 20 ppt, dan 30 ppt hingga akhir pengamatan. Nilai RPS benih perlakuan salinitas 10 ppt pada hari 10, 20, dan 30 pasca-vaksinasi berturut-turut senilai 84,72%, 66,99%, dan 47,06% (Tabel 1). Berdasarkan data tersebut, nilai RPS sudah sangat turun di pengamatan akhir senilai 47,06% yang diikuti menurunnya level antibodi dalam tubuh benih pada penga-

matan akhir. Tingkat proteksi ini berkorelasi dengan level antibodi yang dihasilkan (Pasnik et al., 2006).

Nilai tersebut kurang efektif untuk memberikan proteksi terhadap benih dan diperlukan vaksinasi ulang untuk meningkatkan tingkat proteksinya kembali. Menurut Amend (1981), vaksin dinyatakan efektif apabila dapat menimbulkan proteksi terhadap ikan uji yang ditandai dengan nilai RPS di atas 60% saat dilakukan uji tantang. Nilai RPS terendah terdapat pada perlakuan salinitas tertinggi (30 ppt), hal ini diduga benih kurang bisa beradaptasi dengan salinitas tinggi sehingga vaksin yang terserap kurang dan tingkat proteksi yang ditimbulkan rendah.

Level Antibodi

Transfer imunitas maternal seringkali didasarkan pada perpindahan imunoglobulin (Ig) dari induk ke benih. Imunitas maternal melindungi organisme muda pada masa awal kehidupannya, dan induk betina menyalurkannya melalui kuning telur. Pada ikan, kedua jenis imunitas alami dan adaptif disalurkan melalui induk betina ke keturunannya. Faktor tersebut mencakup imunoglobulin (Ig)/antibodi, faktor komplemen, lisozim, protease inhibitor menyerupai makroglobulin, dan serin protease seperti molekul (Swain dan Nayak, 2009).

Tabel 1. Tingkat kematian dan *relative percent survival* (RPS) benih ikan nila pasca uji tantang

Uji Tantang Benih (hari pasca vaksinasi)	Perlakuan	Tingkat Kematian (%)	RPS (%)
10	Kontrol	53,33 ± 2,31 ^c	-
	0 ppt	16,67 ± 0,58 ^{ab}	68,06 ± 6,36 ^b
	10 ppt	8,33 ± 0,58 ^a	84,72 ± 2,41 ^c
	20 ppt	21,67 ± 0,58 ^b	58,33 ± 8,34 ^{ab}
	30 ppt	26,67 ± 2,89 ^b	48,61 ± 10,48 ^a
20	Kontrol	60,00 ± 2,00 ^d	-
	0 ppt	30,00 ± 1,00 ^b	50,00 ± 0,00 ^b
	10 ppt	20,00 ± 1,00 ^a	66,99 ± 2,87 ^c
	20 ppt	32,00 ± 0,58 ^b	46,67 ± 5,77 ^b
	30 ppt	38,33 ± 0,58 ^c	35,40 ± 6,68 ^a
30	Kontrol	81,67 ± 0,58 ^c	-
	0 ppt	63,33 ± 0,78 ^b	22,79 ± 15,93 ^a
	10 ppt	43,33 ± 0,53 ^a	47,06 ± 8,06 ^a
	20 ppt	48,33 ± 0,59 ^a	41,05 ± 13,77 ^a
	30 ppt	51,67 ± 0,63 ^a	37,25 ± 22,08 ^a

Keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda di belakang nilai standar deviasi pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan antar perlakuan ($P < 0,05$).

Hasil pengukuran titer antibodi pada vaksinasi menunjukkan bahwa secara keseluruhan antibodi cairan tubuh benih ikan nila antar perlakuan mengalami peningkatan dibandingkan kontrol ($P < 0,05$). Hal ini diduga vaksinasi pada perendaman salinitas 0, 10, 20, dan 30 ppt mampu menginduksi terbentuknya antibodi sudah dapat terlihat pada hari ke-10 dalam tubuh ikan dibandingkan dengan kontrol (Gambar 1). Menurut Evans *et al.* (2005), vaksinasi dapat meningkatkan respons imun spesifik karena ikan uji telah memiliki memori imunitas dan adanya pengenalan terhadap imunogen yang sama untuk kedua kalinya.

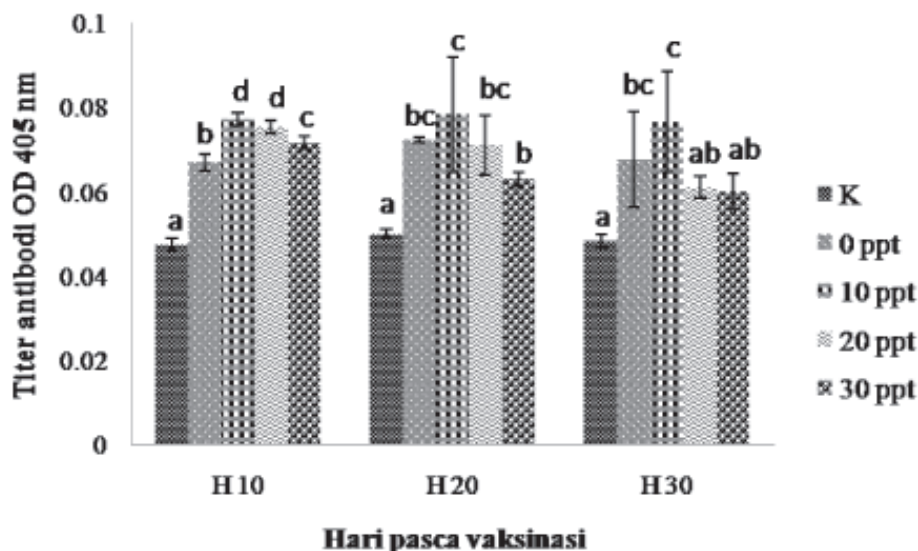
Komposisi vaksin yang terdiri dari sel utuh dan produk ekstraseluler dapat merangsang terbentuknya antibodi. Dinding sel bakteri *S. agalactiae* tersusun dari peptidoglikan yang merupakan struktur kompleks yang terdiri dari gula dan asam amino, sedangkan produk ekstraseluler bakteri *S. agalactiae* merupakan zat antigenik yang kuat, sehingga dapat bersifat imunogenik dan dapat merangsang pertahanan tubuh ikan ketika dilakukan uji tantang terhadap bakteri yang sama. Peptidoglikan dan produk ekstraseluler ini berperan penting dalam menginduksi aktivasi sel-sel limfosit yang berfungsi sebagai sel pembentuk antibodi (respons imun spesifik) dan sel fagositik makrofag (respons imun non spesifik) (Pasnik *et al.*, 2005).

Nilai titer antibodi cairan tubuh benih ikan nila yang direndam pada salinitas 10 ppt (0,077)

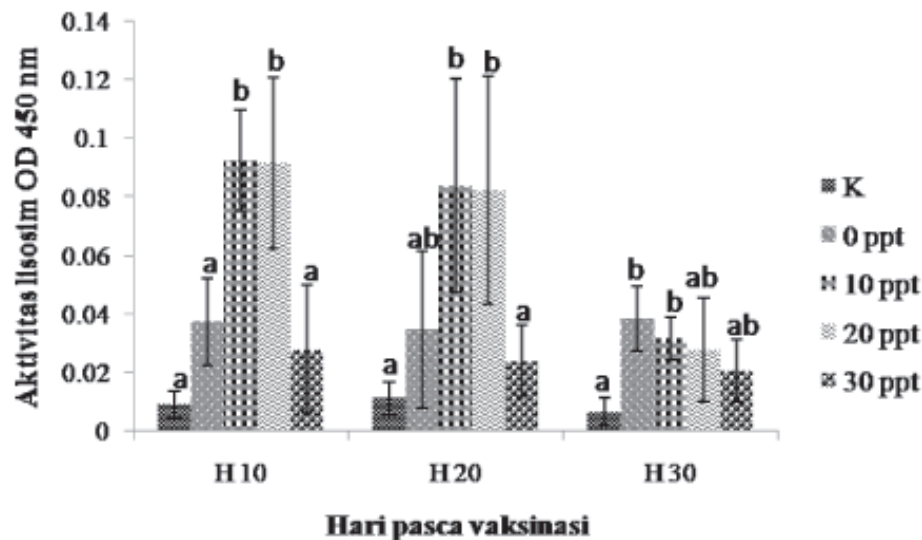
lebih tinggi dibanding yang direndam pada salinitas 0 ppt (0,067) pada hari ke-10 pascavaksinasi ($p < 0,05$). Menurut Ellis (1988), vaksinasi dengan metode infiltrasi hiperosmotik dapat menambah jumlah volume vaksin yang diserap ke dalam tubuh ikan, sehingga menyebabkan antibodi yang lebih tinggi, sedangkan, perendaman pada salinitas 10 ppt dengan nilai rata-rata 0,077 lebih tinggi dibandingkan perlakuan 20 dengan nilai rata-rata 0,069 dan 30 ppt dengan nilai rata-rata 0,065 ($P < 0,05$). Hasil penelitian ini tidak sejalan dengan Hidayatullah (2013) karena nilai titer antibodi tertinggi terdapat pada salinitas 30 ppt dengan ukuran ikan yang lebih besar.

Hal ini disebabkan karena ikan yang lebih besar mampu beradaptasi dengan salinitas yang tinggi dari pada ikan kecil dan berpengaruh terhadap kinerja organ-organ dalam menjaga keseimbangan osmoregulasi. Semakin tinggi tingkat salinitas yang diberikan, maka semakin berat kinerja organ dalam menjaga keseimbangan osmoregulasi. Ikan air tawar yang menghadapi salinitas yang lebih tinggi, cenderung mensekresikan air melalui ginjal untuk mencapai keseimbangan (Nybakken, 1988).

Kenaikan salinitas pada larva menyebabkan lebih banyak kerusakan pada jaringan dan menyebabkan tingkat penyerapan vaksin kurang optimum. Pernyataan ini sejalan dengan laporan Jiang *et al.* (2008) bahwa kerusakan jaringan terjadi paling sedikit pada larva pada



Gambar 1 Titer antibodi setelah vaksinasi pada benih ikan nila dengan metode infiltrasi hiperosmotik pada salinitas berbeda. Huruf *superscript* yang berbeda menunjukkan nilai yang beda nyata antar perlakuan ($P < 0,05$).



Gambar 2. Aktivitas lisosim pascavaksinasi pada benih ikan nila dengan metode infiltrasi hiperosmotik pada salinitas berbeda. Huruf *superscript* yang berbeda menunjukkan nilai yang beda nyata antar perlakuan ($P < 0,05$).

salinitas paling kecil (10 ppt). Kerusakan jaringan dapat berupa lubang pada epitel kulit karena hilangnya jaringan dan pembengkakan pada epitel insang (Fridman, 2011).

Lisosim

Lisosim adalah salah satu enzim bakterisidal penting pada sistem imun alami sebagai respons imun non spesifik selama infeksi seperti kondisi stress dan bertindak sebagai protein fase akut yang berperan dalam pertahanan melawan infeksi penyakit ikan (Swain dan Nayak, 2009). Seperti pada respons imun spesifik, perlakuan perendaman vaksinasi pada salinitas 10 ppt (0,069) juga memberikan hasil terbaik terhadap respons imun non spesifik berupa lisosim ($P < 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan 0 ppt (0,036), 20 ppt (0,068), dan 30 ppt (0,024) (Gambar 2).

Mekanisme sistem imun non spesifik dapat diaktifkan selama terjadi infeksi oleh bakteri patogen (Wang *et al.*, 2010). Tanggapan ini dimediasi oleh makrofag melalui produksi berbagai mediator seperti nitrat oksida, *reactive oxygen species* (ROS), dan *pro inflammatory cytokines*. Vaksinasi benih dari induk yang divaksin gabungan sel utuh dan produk ekstraseluler ini yang dipercaya mampu menginduksi aktivasi makrofag. Hal ini sejalan dengan laporan Hanif *et al.* (2005) yang membuktikan bahwa aktivitas lisosim pascavaksinasi benih dari induk yang divaksin mempunyai nilai lebih tinggi daripada

perlakuan kontrol ($P < 0,05$).

Peningkatan aktivitas lisozim tertinggi terdapat pada perlakuan salinitas 10 ppt dan 20 ppt dibandingkan perlakuan lainnya ($P < 0,05$) pada hari ke-10 kemudian menurun sampai hari ke-30. Hal ini disebabkan karena metode infiltrasi hiperosmotik ini menggunakan media perlakuan yang didesain hipertonik yaitu konsentrasi cairan lingkungan lebih tinggi dibandingkan konsentrasi cairan tubuh ikan dengan memberikan kejutan salinitas. Akibatnya, membran di permukaan tubuh terbuka dan cairan tubuh keluar, kemudian digantikan dengan cairan yang mengandung vaksin (Ellis, 1988).

Perlakuan salinitas tertinggi (30 ppt) memberikan hasil aktivitas lisozim yang rendah. Hal ini diduga jumlah cairan hipertonik yang digunakan terlalu tinggi sehingga menyebabkan kerusakan jaringan yang banyak mengandung sel-sel leukosit sebagai sumber lisozim. Pada ikan teleostei, aktivitas lisozim telah terdeteksi di serum, lendir, kulit, epitel, limpa, ginjal, sel-sel seperti makrofag, dan neutrofil darah (Magnadottir *et al.*, 2005; Fletcher *et al.*, 2010).

SIMPULAN

Vaksinasi secara infiltrasi hiperosmotik salinitas 10 ppt dapat memperbaiki kinerja sistem imun benih dengan memperbaiki

proteksi imunitas maternal melawan infeksi *S. agalactiae*.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait tingkat stres benih yang divaksinasi dengan vaksin gabungan antara sel utuh dan produk ekstraseluler yang direndam pada salinitas 10 ppt.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Departemen Budidaya Perairan, Institut Pertanian Bogor atas fasilitas yang diberikan selama penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Amend DF. 1981. Potency testing of fish vaccine. *Dev Biol Stand* 49: 447-454.
- Ellis AE. 1988. *Fish Vaccination*. San Diego (ID): Academic Press.
- Ellis AE. 1990. Lysozyme Assays. In Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, Roberson BS, van Muiswinkel WB. (Ed) *Textbook of techniques in fish immunology*. NJ: SOS Publication. Hlm. 101-103.
- Evans JJ, Klesius PH, Shoemaker CA, Fitzpatrick BT. 2005. Streptococcus agalactiae vaccination and infection stress in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Journal of Applied Aquaculture*. 16(3): 105-115.
- Evensen O. 2009. Development in fish vaccinology with focus on delivery methodologies, adjuvants and formulations. The Use of Veterinary Drugs and Vaccines in Mediterranean. *Aquaculture*. 86: 177-186.
- Fletcher GL, Hobbs R, Evans R, Shears MA, Hahn A, Hew C. 2010. Lysozyme transgenic Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Research* 42: 427-440.
- Fridman S. 2011. The ontogeny of osmoregulation in the Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). [Thesis]. Stirling, Inggris (ID): University of Stirling.
- Hanif A, Bakopoulos V, Leonardos I, Dimitriadis GJ. 2005. The effect of sea bream (*Sparus aurata*) broodstock and larval vaccination on the susceptibility by *Photobacterium damsel* subsp. *piscicida* and on the humoral immune parameters. *Fish and Shellfish Immunology* 19: 345-361.
- Hardi EH, Sukenda, Harris E, Lusiastuti AM. 2013. Kandidat vaksin potensial *Streptococcus agalactiae* untuk pencegahan penyakit streptococcosis pada ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *J Veteriner* 14: 408-416.
- Jiang IF, Kumar VB, Lee DN, Weng CF. 2008. Acute osmotic stress affect Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) innate immune responses. *Fish & shellfish immunology* 25: 841-846.
- Kamiso HN. 2001. *Imunologi dan vaksinasi pada ikan*. Pekanbaru (ID): Universitas Riau.
- Magnadottir B, Lange S, Gudmundsdottir S, Børgwald J, Dalmo RA. 2005. Ontogeny of humoral immune parameters in fish. *Fish and Shellfish Immunology* 19: 429-439.
- Mulero I, Ayala AG, Meseguer J, Mulero V. 2007. Maternal transfer of immunity and ontogeny of autologous immunocompetence of fish: A minireview. *Aquaculture* 268: 244-250.
- Nybakken JW. 1988. *Biologi laut suatu pendekatan ekologis*. Eidman HM, Koesoebiono DG, Bengen M, Hutomodan S, Sukardjo, penerjemah. Jakarta (ID): Gramedia.
- Pasnik DJ, Evans JJ, Panangala VS, Klesius PH, Shelby RA, Shoemaker CA. 2005. Antigenicity of *Streptococcus agalactiae* extracellular products and vaccine efficacy. *J Fish Dis* 28: 205-212.
- Pasnik DJ, Evans JJ, Klesius PH. 2006. Passive immunization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) provides significant protection against *Streptococcus agalactiae*. *Fish Shellfish Immunol* 21: 365-371.
- Sheehan B, Labrie L, Lee Y, Lim W, Wong F, Chan J. 2009. Streptococcal diseases in farmed tilapia. *Aquaculture Asia Pacific* 5 (6): 26-29.
- Shelby RA, Shoemaker CA, Klesius PH, 2002. Detection of humoral response to *Streptococcus iniae* infection of Nile tilapia, *Oreo-*

- chromis niloticus*, by a monoclonal antibody based ELISA. *J Appl Aquac* 12: 23-31.
- [SNI] Standar Nasional Indonesia. 2009. Produksi ikan nila hitam (*Oreochromis niloticus* Bleeker) kelas induk pokok. Badan Standardisasi Nasional/BSN, SNI 6139:2009.
- Swain P, Dash S, Bal J, Routray P, Sahoo PK, Sahoo SK, Saurabh S, Gupta SD, Meher PK. 2006. Passive transfer of maternal antibodies and their existence in eggs, larvae, and fry of Indian major carp, *Labeo rohita* (Ham.). *Fish & Shellfish Immunology* 20: 519-527.
- Swain P, Nayak NK. 2009. Role of maternally derived immunity in fish. *Journal Fish & Shellfish Immunology* 27: 89-99.
- Tizard I. 1982. *Pengantar Immunologi Veteriner*. Surabaya (ID): Universitas Airlangga.
- Wang Y, Osatomi K, Yoshida Y, Liang X, Kanai K, Oda T, Hara K. 2010. Extracellular products from virulent strain of *Edwardsiella tarda* stimulate mouse macrophages (RAW264.7) to produce nitric oxide (NO) and tumor necrosis factor (TNF)- α . *Fish Shellfish Immunol* 29: 778-785.