

## KERENTANAN IKAN NILA SULTANA, RED NIFI, SRIKANDI DAN AUREUS TERHADAP INFEKSI BAKTERI *Streptococcus agalactiae*

Rita Febrianti<sup>\*)#</sup>, Tauhid<sup>\*\*)</sup>, dan Angela Mariana Lusiastuti<sup>\*)</sup>

<sup>\*)</sup> Balai Penelitian Pemuliaan Ikan

<sup>\*\*)</sup> Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar

(Naskah diterima: 2 Februari 2015; Revisi final: 3 Juni 2015, Disetujui publikasi: 5 Juni 2015)

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menguji kerentanan empat strain ikan nila, yaitu: Sultana, Red NIFI, Srikandi, dan Aureus terhadap infeksi bakteri *Streptococcus agalactiae*. Ikan uji berukuran 15-20 g/ekor dan berasal dari populasi, serta batch umur yang sama. Infeksi bakteri *S. agalactiae* dilakukan secara buatan melalui penyuntikan *intra peritoneal* (IP) pada dosis  $10^4$  cfu/mL, sedangkan kelompok kontrol diinjeksi dengan larutan *Phosphate Buffered Saline* (PBS). Pengamatan dilakukan terhadap gejala klinis dan mortalitas ikan uji yang berlangsung selama 14 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh strain ikan nila mengalami respons yang sama terhadap infeksi bakteri *S. agalactiae* yang ditandai dengan munculnya gejala klinis seperti: warna gelap/menghitam, sirip geripis, nekrosa pada mulut, mata menonjol, *opaque*, *ulcer*, dan *dropsy*. Kerentanan tertinggi terhadap infeksi bakteri *S. agalactiae* yang dimanifestasikan dengan rata-rata persentase mortalitas ikan uji diperoleh pada ikan nila Aureus sebesar 72%, Sultana 50%, Srikandi 36%, Red NIFI sebesar 24%, dan kontrol tidak ada mortalitas. Setelah diuji tantang, kadar limfosit mengalami kenaikan, netrofil dan monosit mengalami penurunan.

**KATA KUNCI:** ikan nila, *S. agalactiae*, dan kerentanan

**ABSTRACT:** *Susceptibility of sultana, red NIFI, srikandi, and aureus tilapias against Streptococcus agalactiae infection. By: Rita Febrianti, Tauhid, and Angela Mariana Lusiastuti*

The study aimed to evaluate the susceptibility of four strains of tilapia namely Sultana, Red NIFI, Srikandi, and Aureus against pathogenic bacteria, *Streptococcus agalactiae*. Each strain of fish tested were originated from the same population and batch production. The susceptibility test against *S. agalactiae* infection was done by artificial infection via *intra peritoneal* (IP) route at the dose of  $10^4$  cfu/mL/fish. Control group was injected by *Phosphate Buffered Saline* (PBS) solution at the dose of 0.1 mL/fish. Clinical signs and mortality rate was monitored daily for 14 days observation. The results indicated that all of tilapia strains showed the same response to *S. agalactiae* infection, indicated by clinical signs: darken body colour, fins rot, uni/bilateral exophthalmia, opaque, ulceration, and dropsy. The most highest susceptible tilapia strains was aureus (72% mortality), followed by sultana (50% mortality), srikandi (36% mortality), red NIFI (24% mortality) while control no mortality. After the challenge test, the level of lymphocytes increased while neutrophils and monocytes levels decreased.

**KEYWORDS:** *tilapias, S. agalactiae, and susceptibility*

### PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) diintroduksi dari Taiwan ke Indonesia (Bogor) pada tahun 1969 untuk tujuan budidaya. Kemudian muncul strain-strain yang lebih unggul seperti nila Chitralada yang berwarna hitam dan nila NIFI yang berwarna merah. Kedua strain

ikan nila tersebut didatangkan pada tahun 1989 dari Thailand (Jangkaru *et al.*, 1991). Selanjutnya, Indonesia mengintroduksi ikan nila strain *Genetic Improvement of Farmed Tilapia* (GIFT) dari Filipina (Gustiano *et al.*, 2008).

Selama ini, ikan nila dikenal sebagai jenis ikan budidaya yang cepat tumbuh, dan teknik budidaya yang relatif mudah, serta relatif tahan terhadap penyakit. Oleh karena itu, ikan nila diharapkan menjadi salah satu primadona budidaya air tawar. Selain itu juga, sebagai pemasok protein hewani bagi masyarakat.

# Korespondensi: Balai Penelitian Pemuliaan Ikan.  
Jl. Raya Sukamandi No. 2, Patokbeusi, Subang 41256, Indonesia.  
Tel.: + (0260) 520500  
E-mail: ritafebrianti@kkip.go.id

kat Indonesia dan kecenderungan tersebut terlihat dari peningkatan produksi yang tinggi dalam empat tahun terakhir, yaitu dari 206.904 ton pada tahun 2007 menjadi 481.440 ton pada tahun 2011; atau mengalami peningkatan rata-rata sebesar 24,76% per tahun (Kelautan dan Perikanan dalam Angka, 2011).

Sejalan dengan perkembangan budidaya ikan nila yang semakin intensif dalam mendukung program industrialisasi perikanan budidaya, masalah penyakit telah menjadi salah satu kendala dan harus menjadi perhatian dalam pengembangan budidaya ikan nila di Indonesia. Streptococcosis atau “*syndrome meningo-encephalitis* dan *panophthalmitis*” merupakan penyakit yang sering terjadi pada budidaya ikan nila dengan tingkat kematian berkisar 30%-80%; dan kasus streptococcosis dengan kematian yang tinggi umumnya terkait dengan multi faktor seperti fluktuasi suhu air, peningkatan kadar amonia dan kadar oksigen terlarut yang rendah (Evans *et al.*, 2002).

Taukhid & Purwaningsih (2011) menyatakan bahwa kasus streptococcosis di beberapa sentra budidaya ikan nila dengan gejala umum seperti: lemah, warna tubuh gelap, hilang nafsu makan, hilang keseimbangan, *uni/bilateral exophthalmia* dengan kornea mata berwarna pucat, pendarahan pada bagian eksternal serta luka; umumnya disebabkan oleh infeksi bakteri *S. agalactiae* (85%) dan *S. iniae* (15%). Infeksi *S. agalactiae* pada ikan nila bersifat akut; sedangkan infeksi *S. iniae* lebih bersifat kronis. Hal tersebut mengindikasikan bahwa bakteri *S. agalactiae* lebih berpotensi sebagai penyebab streptococcosis yang lebih serius pada budidaya ikan nila. Eldar *et al.* (1995), Salvador *et al.* (2005), dan Zahrah *et al.* (2008) juga mendapatkan kesimpulan yang sama tentang gejala klinis dan tingkat mortalitas akibat infeksi *S. agalactiae* pada ikan nila yang dibudidayakan di keramba jaring apung. Kerentanan lima strain ikan nila terhadap bakteri *Streptococcus* sp. telah dilakukan di Arab Saudi (Harbi, 1996). *Oreochromis niloticus* memiliki ketahanan yang lebih tinggi dibandingkan strain nila yang lain (Harbi, 1996). Nilai ketahanan untuk jenis ikan yang sama ternyata berbeda (Amal *et al.*, 2008). Perbedaan nilai tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan suhu dan lingkungan (Sepahi *et al.*, 2013).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji kerentanan (*hosts susceptibility*) beberapa strain ikan nila terhadap bakteri *S. agalactiae*, patogen penyebab streptococcosis pada ikan nila melalui infeksi buatan secara laboratoris. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dalam pemilihan strain, serta strategi pengelolaan kesehatan pada budidaya ikan nila yang dilakukan pada kawasan yang endemis streptococcosis.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan pada skala laboratorium, di Laboratorium Mikrobiologi-Genetik-Kualitas Air, Balai Penelitian Pemuliaan Ikan (BPPI) Sukamandi dan Laboratorium Kesehatan Ikan, Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar (BPPBAT) Bogor.

### Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan adalah ikan nila strain Sultana, Red NIFI, Srikandi, dan Aureus (nila biru) dengan ukuran 15-20 g/ekor. Keempat strain (populasi) ikan uji tersebut berasal dari hasil pemijahan secara terkontrol di unit perkolaman BPPI Sukamandi. Masing-masing strain atau populasi ikan uji berasal dari *batch* pemijahan yang sama dan diasumsikan “*specific pathogen free* (SPF)” terhadap bakteri *S. agalactiae* berdasarkan hasil diagnosis secara bakteriologis yang dilakukan secara acak terhadap masing-masing populasi tersebut sebelum proses aklimatisasi.

Aklimatisasi dilakukan secara *pooling* untuk masing-masing strain ikan uji dalam bak *fiber glass* volume 60 L dan berlangsung selama 14 hari. Setelah seluruh ikan uji menunjukkan kondisi normal (tingkah laku, respons, dan status kesehatan), selanjutnya dilakukan *plotting* sesuai dengan rancangan penelitian. Jumlah ikan uji adalah 25 ekor/wadah. Pemberian pakan dilakukan secara *adlibitum* sebanyak tiga kali/hari (pagi, siang, dan sore). Jenis pakan yang digunakan adalah pakan komersial (pelet apung) dengan kadar protein kasar sebesar  $\pm 28\%$ .

### Penyiapan Bakteri *S. agalactiae*

Isolat bakteri *S. agalactiae* yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat bakteri *S. agalactiae*-N14G yang merupakan koleksi *Biological Culture Collection* (BCC) Laboratorium Kesehatan Ikan BPPBAT Bogor. Sejarah dan karakterisasi isolat bakteri tersebut telah dilakukan secara komprehensif oleh Laboratorium Kesehatan Ikan BPPBAT Bogor. Sebelum digunakan sebagai patogen uji, terlebih dahulu isolat bakteri tersebut dipulihkan potensinya melalui uji *Koch's Postulate* terhadap populasi ikan nila SPF.

Biakan bakteri ditumbuhkan pada media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) + gliserol dan disimpan dalam *deep freezer* (suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ ), ditumbuhkan kembali pada media BHIB. Selanjutnya, prosedur *Koch's Postulate* dilakukan dengan menyuntikan 0,1 mL inokulum ke ikan nila uji secara *intrapertoneal* (IP). Reisolasi dilakukan terhadap individu ikan uji yang menunjukkan gejala klinis, selanjutnya isolat bakteri tersebut direkarakterisasi mengacu pada SNI 7545.3:2009 (BSN, 2009) yang meliputi: pengujian pewarnaan gram, motilitas, oksidase, oksidatif-fermentatif, katalase,

penumbuhan dalam *bile salt* 40%, penumbuhan dalam NaCl 6,5%; hemolisis darah, *aesculin hydrolysis*, dan asam *D-mannitol*.

### Infeksi Buatan (Perlakuan)

Pengujian kerentanan masing-masing strain ikan nila uji dilakukan melalui infeksi buatan terhadap isolat bakteri yang telah diketahui sifat dan potensi patogenitasnya. Infeksi buatan dilakukan terhadap seluruh ikan nila uji dari masing-masing strain melalui penyuntikan *intra peritoneal* (IP) pada dosis lethal 50% ( $LD_{50}$ ) berdasarkan hasil penelitian Tauhid & Purwaningsih (2011) dengan nilai matematis  $Y = 15,4062 + 10,4127X$  atau setara dengan  $2,1 \times 10^3$  cfu sebanyak 0,1 mL/ekor. Kelompok ikan nila kontrol untuk masing-masing strain disuntik dengan larutan *phosphate buffered saline* (PBS) sebanyak 0,1 mL/ekor.

### Pengamatan

Pengamatan terhadap tingkah laku, gejala klinis, dan mortalitas ikan uji dilakukan setiap hari selama 14 hari. Pada hari pertama pasca infeksi buatan, pengamatan dilakukan mulai jam ke-2, 4, 8, 16, dan 24; pada hari kedua dan seterusnya dilakukan pengamatan setiap delapan jam. Penentuan periode pengamatan didasarkan pada hasil penelitian Tauhid & Purwaningsih (2011) bahwa infeksi bakteri *S. agalactiae* pada ikan nila bersifat akut, dan periode inkubasi umumnya berlangsung selama 14 hari.

Pada periode pengamatan, dilakukan pula pengambilan sampel selektif terhadap individu yang menunjukkan tingkah laku dan/atau gejala klinis spesifik, minimal sebanyak satu ekor dari masing-masing kelompok perlakuan untuk diagnosis/identifikasi patogen target.

Konfirmasi diagnosis terhadap ikan uji yang menunjukkan gejala klinis spesifik akibat infeksi bakteri *S. agalactiae* dilakukan melalui isolasi, identifikasi uji biokimia berdasarkan metode SNI 7545.3:2009 yang dilanjutkan dengan deteksi melalui metode *polymerase chain reaction* (PCR) menurut metode yang dikembangkan oleh (Alpha DNA Montreal, Quebec) menggunakan pasangan primer Sdi 61: AGGAAACC TGCCATTTGCG dan Sdi 252:CAATCTATTTCTAGAT CGTGG dengan target amplicon 192 bp.

Kematian ikan diamati setiap hari dan dicatat jumlahnya. Kematian ikan dirumuskan sebagai berikut (Goddard, 1996):

$$\text{Kematian} = \frac{\text{Jumlah ikan yang mati}}{\text{Jumlah ikan awal}} \times 100$$

Sebagai data penunjang, pengamatan juga dilakukan terhadap gambaran darah (*differential leucocyte*)

ikan uji yang diamati sesaat sebelum pemberian infeksi buatan dan pada akhir pelaksanaan penelitian. Pembuatan preparat darah untuk tujuan tersebut dilakukan menurut metode SNI 7545.3:2009, sedangkan pengamatan dan penghitungan proporsi masing-masing jenis leukosit dilakukan menurut metode pewarnaan Giemsa.

Parameter kualitas air yang diamati selama berlangsungnya penelitian ini meliputi: suhu, oksigen terlarut (DO), pH, konduktivitas, dan turbiditas yang diukur menggunakan alat *Water Quality Checker* (WQC). Sedangkan parameter lainnya diukur dengan metode standar seperti: kadar  $N-NH_3$  (SNI: 06-6989.30-2005 Spektrofotometrik) (BSN, 2005), nitrit (SNI: 06-6989.9-2004 Spektrofotometrik) (BSN, 2004a), nitrat (SNI: 06-2480-1991 Spektrofotometrik) (BSN, 1991), total kesadahan (SNI: 06-6989.12-2004 titrimetri) (BSN, 2004b), dan total alkalinitas (titrimetri).

### Analisis Data

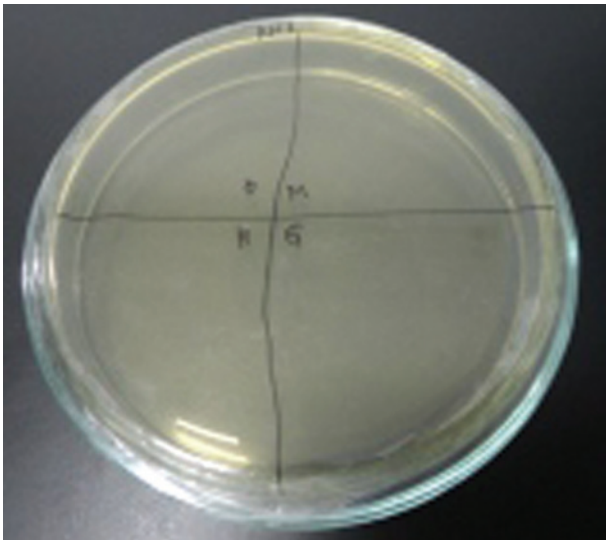
Analisis dilakukan secara statistik terhadap data yang terukur, sedangkan terhadap hasil pengamatan yang tidak terukur dianalisis secara deskriptif. Data sintasan dilakukan analisis sidik ragam (Anova) untuk mengetahui pengaruh perlakuan yang diterapkan, data terlebih dahulu dianalisa dengan uji homogenitas, uji normalitas, dan uji aditifitas. Analisis dilakukan menggunakan program *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), jika hasil analisis diperoleh beda nyata ( $P < 0,05$ ) atau sangat beda nyata ( $P < 0,01$ ) maka dilanjutkan dengan uji Duncan untuk melihat perbedaan respons dari masing-masing strain ikan nila, yang diasumsikan sebagai perlakuan.

## HASIL DAN BAHASAN

### Kerentanan dan Mortalitas

Uji Postulat Koch menunjukkan ikan nila Sultana, Red NIFI, Srikandi, dan Aureus yang digunakan untuk ujiantang bebas dari bakteri *S. agalactiae*. Bebas bakteri ditandai dengan tidak munculnya bakteri pada permukaan agar BHIA (Gambar 1).

Pola kematian ikan nila mulai terjadi pada hari pertama setelah injeksi bakteri *S. agalactiae*. Kematian tertinggi terjadi pada strain Aureus kemudian diikuti oleh strain Sultana, Srikandi, dan Red NIFI. Ikan nila Aureus mulai mengalami *recovery* pada hari ke-11, sedangkan pada ikan nila Sultana, Srikandi, dan Red NIFI secara berturut-turut mulai pada hari ke-13, 12, dan hari ke-8 (Gambar 2A). Berdasarkan Gambar 2A, ikan nila mengalami *recovery* atau pemulihan berkisar hari ke-8 sampai hari ke-13 setelah injeksi bakteri *S. agalactiae*. Menurut Robisalmi *et al.* (2011), ikan nila Red NIFI mulai mengalami *recovery* pada hari ke-



Gambar 1. Hasil uji postulat koch ikan uji sebelum diuji tantang

Figure 1. Koch postulates test results before challenge test

11. Ikan nila yang tidak mengalami kematian, umumnya menjadi sembuh dan sehat kembali (berenang normal) jika memiliki ketahanan tubuh yang kuat namun jika tidak, maka gejala klinis terus berkembang untuk memasuki tahap kematian (Robisalmi *et al.*, 2011).

Kerentanan ikan dimanifestasikan dalam rataan kematian ikan (mortalitas). Berdasarkan Gambar 2B, mortalitas tertinggi terjadi pada ikan nila Aureus sebesar 72%, Sultana sebesar 50%, Srikandi sebesar 36%, dan Red NIFI sebesar 24%. Oleh karena itu, ikan nila Aureus lebih rentan terkena penyakit yang disebabkan bakteri *S. agalactiae*. Menurut Cipriano (2001) dalam Winarti (2010), keganasan penyakit dipengaruhi oleh faktor yang saling berhubungan, seperti virulensi bakteri, macam dan derajat stres yang dipenga-

ruhi populasi ikan, kondisi fisiologi dari inang dan derajat resistensi genetik yang tidak bisa dipisahkan dalam populasi spesifik dari ikan.

Keempat strain tersebut memiliki tingkat mortalitas yang secara nyata berbeda-beda (Tabel 1). Jika nilai mortalitas diuji dengan *One Way Anova* menghasilkan hubungan strain Sultana memiliki nilai sintasan yang berbeda nyata dengan strain Red NIFI, Srikandi, dan Aureus dengan ( $P < 0,05$ ). Begitu pula dengan strain Red NIFI berbeda nyata dengan strain Sultana, Srikandi, dan Aureus (Tabel 1). Menurut Harbi (1996), perbedaan kerentanan terhadap bakteri *S. agalactiae* berhubungan dengan diferensial genetik tiap-tiap strain.

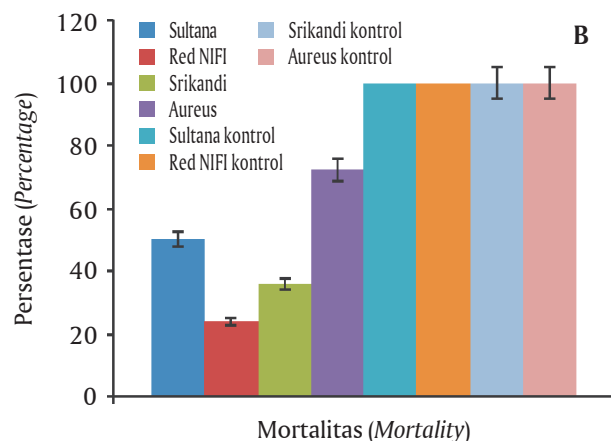
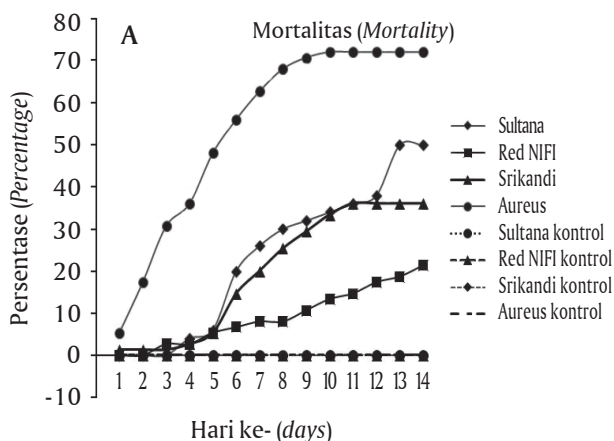
Tabel 1. Mortalitas ikan nila setelah uji tantang diolah dengan *Anova One Way*

Table 1. Mortality rate challenge test processed by *One Way Anova*

Strain	Mortalitas Mortality (%)
Sultana	50.00 ± 2.00 <sup>a</sup>
Red Nifi	24.00 ± 6.93 <sup>b</sup>
Srikandi	36.00 ± 4.00 <sup>c</sup>
Aureus	72.00 ± 4.00 <sup>d</sup>
Sultana kontrol (Control)	0.00 ± 0.00 <sup>e</sup>
Red Nifi kontrol (Control)	0.00 ± 0.00 <sup>e</sup>
Srikandi kontrol (Control)	0.00 ± 0.00 <sup>e</sup>
Aureus kontrol (Control)	0.00 ± 0.00 <sup>e</sup>

Keterangan (Note):

Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama setelah nilai rata-rata menunjukkan berbeda tidak nyata ( $P > 0.05$ ) pada uji Duncan. Data disajikan dalam rata-rata ± standar deviasi ( $n = 3$ ) (Value with the same superscripts after means values are not significantly different ( $P > 0.05$ ) in Duncan test. Data are means ± standard deviations ( $n = 3$ ))



Gambar 2. Perkembangan ikan nila setelah injeksi. Kematian harian (A), dan mortalitas (B)

Figure 2. Development of tilapia after injection. The death daily (A), and mortality (B)

### Gejala Klinis

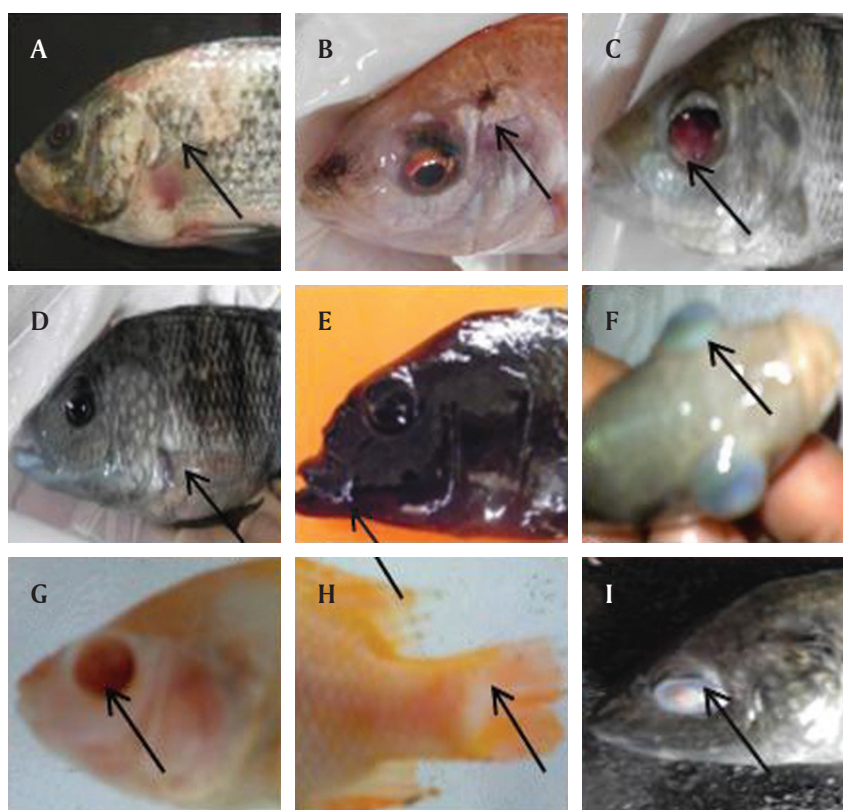
Gejala klinis mulai terjadi pada hari pertama setelah diinjeksi bakteri *S. agalactiae* (Tabel 2). Contoh dari gejala klinis yaitu: tingkah laku abnormal seperti berenang berputar, serta mata menonjol (*exophthalmus*), nafsu makan ikan menurun, lemah, badan berwarna gelap, pertumbuhan lambat, warna kulit gelap di bawah rahang, mata menonjol, pendarahan, perut menggembung (*dropsy*) atau luka yang berkembang menjadi borok, serta tidak menunjukkan gejala klinis yang jelas kecuali kematian yang terus berlangsung.

Menurut Hardi (2011), bakteri *S. agalactiae* N14G merupakan tipe non-hemolitik yang lebih virulen dibandingkan dengan tipe  $\beta$ -hemolitik dilihat dari kematian, munculnya gejala klinis, perubahan tingkah laku, perubahan patologi anatomi baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Pemaparan antigen pada *intramuscular* menyebabkan bakteri langsung masuk ke dalam jaringan dan pembuluh darah (kapiler) kemudian menyebar ke seluruh organ tubuh ikan (Winarti, 2010). Bakteri *S. agalactiae* menyerang organ otak, mata, dan ginjal. Ikan berenang abnormal disebabkan adanya bakteri *S. agalactiae* pada otak. Keberadaan bakteri pada organ mata dapat menyebabkan perubahan pada mata, seperti *opacity*, eksop-

talmia, dan sebagainya. Bakteri yang terdapat pada organ ginjal menyebabkan perubahan warna badan menjadi lebih hitam (Winarti, 2010).

Gejala klinis mulai terjadi setelah penyuntikan 24 jam. Contoh gejala klinisnya yaitu luka memar (Gambar 3A), insang memar (Gambar 3B), pendarahan mata (Gambar 3C), perut membengkak *dropsy* (Gambar 3D), kulit menghitam (Gambar 3E), mata menonjol (Gambar 3F), mata lisis/lepas (Gambar 3G), sirip ekor geripis (Gambar 3H), dan mata putih (Gambar 3I). Perubahan pola renang dapat disebabkan oleh ikan yang terinfeksi *S. agalactiae* cenderung agresif dengan sirip punggung yang mengembang dan berenang lemah di dasar. Ikan kontrol menunjukkan pola renang yang masih teratur.

Gejala khas lainnya yang muncul adalah *whirling*. *Whirling* mulai muncul pada hari ke-5. Gejala *whirling* menyebabkan gerakan renang badan ikan berkelok-kelok tidak terarah dan tidak teratur. Gejala ini lama kelamaan akan membuat ikan yang terinfeksi berenang lemah dan berada di dasar akuarium (Hardi, 2011). Nafsu makan ikan juga menurun jika dibandingkan dengan ikan kontrol. Hal itu disebabkan terinfeksi organ otak oleh *S. agalactiae*. Organ otak yang terinfeksi akan mengganggu kerja hipotalamus



Gambar 3. Gejala klinis ikan nila. Luka (A), insang memar (B), pendarahan mata (C), perut menggembung (D), kulit menghitam (E), mata menonjol (F), mata lisis (G), sirip geripis (H), dan mata putih (I)  
 Figure 3. Clinical symptoms of tilapia. Ulcer (A), clear operculum (B), eyes haemorrhage (C), dropsy (D), darkened pigment/melanosis (E), exophthalmia (F), eyes lysis (G), fins damage (H), and purulens (I)

Tabel 2. Gejala klinis pada ikan nila strain Sultana, Red NIFI, Sriikandi, dan Aureus selama uji tantang dengan bakteri *S. agalactiae*  
 Table 2. Clinical signs for tilapia strains of Sultana, Red NIFI, Sriikandi, and Aureus during *S. agalactiae* challenge test

Hari ke-Days	Sultana	Red Nifi	Sriikandi	Aureus
0	-	-	-	-
1	Berenang berkelompok <i>Swim in groups</i>	Mata berkabut ( <i>Opacity</i> )	Kulit menghitam ( <i>Darkened pigment/melanosis</i> )	Mulai terjadi kematian, mulut melepuh ( <i>Mortality, haemorrhaging in the mouth</i> )
2	Kulit hitam, berenang di dasar, ujung sirip dan ekor geripis ( <i>Darkened pigment/melanosis, swim at the base, fin and tail rot damage</i> )	Mata menonjol ( <i>Exophthalmia</i> )	Berenang di permukaan, berenang gelisah, ujung sirip ekor menghitam, mulut memerah ( <i>Swim on the surface, erratic movement, tail fin darkened, haemorrhaging in the mouth</i> )	Ekor habis, kulit hitam, kulit mengelupas, bercak merah ( <i>Tail erosion, darkened pigment, skin damage, haemorrhaging</i> )
3	Berenang memisahkan diri di dasar, mulut melepuh ( <i>Erratic movement, erosion of the mouth</i> )	Mata menonjol, insang luka, bercak kulit hijau, perut memar ( <i>Exophthalmia, gills damage, ulcers pelvic fins</i> )	Kulit hitam, berenang memisahakan diri, sirip ekor habis ( <i>Darkened pigment/melanosis, erratic movement, tail erosion</i> )	Kulit melepuh, insang rusak, mata putih, ekor geripis, insang memar ( <i>Skin damage, gill damage, purulens, tail fin damage, haemorrhaging in gills</i> )
4	Mulai ada kematian, berenang di dasar, ekor habis, kulit menghitam ( <i>Mortality, swim at the base, tail erosion, darkened pigment/melanosis</i> )	Mata hijau kekuningan <i>Corneal opacity</i>	Kulit hitam, berenang di dasar, mata berserabut ( <i>Darkened pigment/melanosis, swim at the base, opacity</i> )	Mata berserabut, kulit melepuh, sirip geripis ( <i>Opacity, ulcers, fin damage</i> )
5	Kulit hitam dan melepuh ( <i>Darkened pigment/melanosis and ulcers</i> )	Mulai terjadi kematian <i>Mortality</i>	Berenang berputar, mata berserabut ( <i>Whirling, opacity</i> )	Kulit hitam, perut menggebung ( <i>Darkened pigment/melanosis, dropsy</i> )
6	Berenang tidak seimbang, mulut memerah, mulut geripis ( <i>Whirling, haemorrhaging in the mouth, erosion of the mouth</i> )	Sirip rusak, mulut bagian bawah luka memerah ( <i>Fin damage, haemorrhaging in the mouth</i> )	Kulit menghitam, mulai terjadi kematian ( <i>Darkened pigment/melanosis, mortality</i> )	Kulit hitam, luka ( <i>Darkened pigment/melanosis, ulcers</i> )

Lanjutan Tabel 2 (Table 2 continued)

Hari ke-Days	Sultana	Red Nifi	Srikandi	Aureus	Norm
7	Pigmen hitam, mulut memerah, mulut geripis (Darkened pigment/melanosis, haemorrhaging in the mouth, erosion of the mouth)	Sirip rusak, mulut bagian bawah luka memerah (Fin damage, haemorrhaging in the mouth)	Mata menonjol dan bersebut, mulut memerah, kulit hitam, berenang tak seimbang Exophthalmia, haemorrhaging in the mouth, darkened pigment/melanosis, whirling	Berenang di dasar (Swim at the base)	Norm
8	Pigmen hitam, mulut memerah Darkened pigment/melanosis, haemorrhaging in the mouth	Sirip rusak, mulut bagian bawah luka memerah (Fin damage, haemorrhaging in the mouth)	Ekor habis, sirip geripis, mata serabut, mulut luka (Tail erosion, fin damage, opacity, mouth damage)	Bagian mulut rusak dan memerah (Mouth damage, haemorrhaging in the mouth)	Norm
9	Mulut luka seperti melepuh Haemorrhaging in the mouth	Mulut luka melepuh Haemorrhaging in the mouth	Berenang di permukaan, sirip ekor habis, mulut bagian bawah luka (Swim on the surface, tail erosion, mouth damage/ulcer)	Mulut bagian bawah, luka memerah (pendarahan) (Mouth damage, haemorrhaging in the mouth)	Norm
10	Kulit hitam (Darkened pigment/melanosis)	Mulut luka melepuh Haemorrhaging in the mouth	Ekor habis, mulut rusak, mata berkarut (Tail erosion, mouth damage, opacity)	Sirip punggung geripis (Dorsal fin damage)	Norm
11	Kulit hitam (Darkened pigment/melanosis)	Normal (Normal)	Kulit hitam (Darkened pigment/melanosis)	Kulit hitam (Darkened pigment/melanosis)	Norm
12	Berenang normal Normal swim	Berenang normal Normal swim	Normal (Normal)	Normal (Normal)	Norm
13	Normal (Normal)	Normal (Normal)	Normal (Normal)	Normal (Normal)	Norm
14	Normal (Normal)	Normal (Normal)	Normal (Normal)	Normal (Normal)	Norm

yang mengatur rasa lapar di bagian lateral. Sel yang terganggu berada dalam *telenchepalon* (otak depan) yang menyebabkan nafsu makan menurun. Infeksi di otak menyebabkan terganggunya enzim pencernaan ikan yang dapat mengganggu gerakan peristaltik usus (Winarti, 2010).

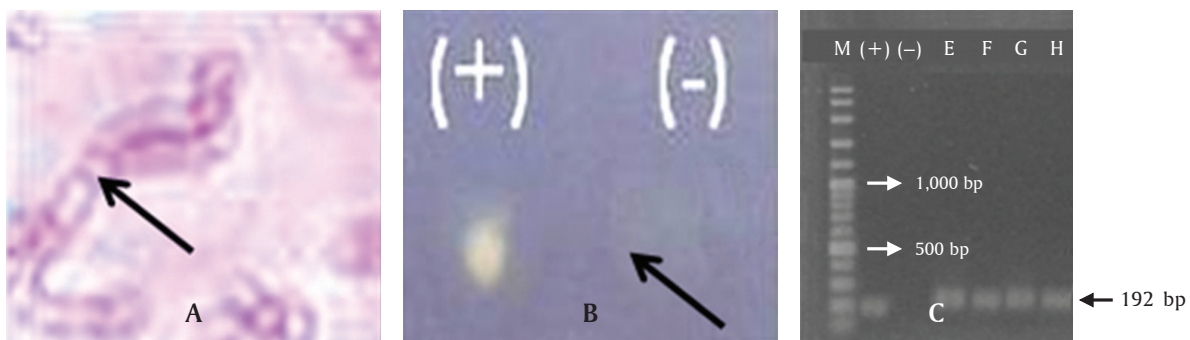
Pembengkakan awal pada mata menyebabkan mata mengkerut, pupil mata mengecil, mata berkabut/*purulens* hingga sebelah mata dapat hilang atau lisis (Gambar 3G). Pembengkakan mata atau eksophtalmia disertai dengan perdarahan. Gejala lainnya yang muncul adalah luka (*ulcers*) di bagian kepala ikan nila pada hari ke-6 dan muncul abses di bagian bekas injeksi yang menjalar ke seluruh badan dan perut terjadi pada hari ke-5 (Gambar 3D). Gejala klinis yang terjadi sesuai dengan hasil penelitian Hardi (2011).

Ikan yang mengalami gejala klinis dan sekarat diuji konfirmasi mengenai gejala yang terjadi. Uji konfirmasi tersebut meliputi: uji pewarnaan bakteri, uji katalase, dan memvisualisasikan hasil PCR dengan elektroforesis. Hasil uji konfirmasi dapat dilihat pada Gambar 4.

Berdasarkan Gambar 4A, bakteri *S. agalactiae* merupakan sel yang bulat atau sferis, tersusun berpasangan. Hasil penelitian sesuai dengan hasil penelitian (Duremdez *et al.*, 2004), bakteri *S. agalactiae* berbentuk rantai, bakteri gram positif, golongan bakteri yang heterogen, sel berbentuk bulat atau sferis. *S. agalactiae* bersifat anaerob fakultatif, kebanyakan berkembang di udara, tetapi beberapa membutuhkan CO<sub>2</sub> untuk berkembang. Semua spesies *S. agalactiae* merupakan bakteri non-motil, *non-sporing* dan menunjukkan hasil negatif untuk tes katalase (Gambar 4B). Uji katalase menggunakan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% menunjukkan hasil negatif karena tidak terbentuk gelembung. Hal tersebut membuktikan bahwa kematian ikan disebabkan oleh bakteri *S. agalactiae*. Konfirmasi juga dilakukan melalui visualisasi hasil PCR dengan elektroforesis. Hasil elektroforesis menunjukkan bakteri yang menginfeksi ikan adalah bakteri *S. agalactiae* yang memiliki marka pada ukuran 192 bp (Gambar 4C).

**Gambaran Darah**

Kadar limfosit pada umumnya mengalami kenaikan setelah diuji tantang (Tabel 3). Hal ini disebabkan,



Gambar 4. Hasil konfirmasi isolasi bakteri *S. agalactiae* dari organ otak ikan. Pewarnaan bakteri (A), uji katalase (B), dan uji PCR (C)

Figure 4. The results of confirmation bacterial isolation *S. agalactiae* confirmation of brain organs of fish. Staining of bacteria (A), catalase test (B), and PCR test (C)

Tabel 3. Perbedaan diferensial leukosit sebelum dan sesudah uji tantang pada strain Sultana, Red NIFI, Srikandi, dan Aureus

Table 3. Difference of differential leucocyte before and after challenge test of Sultana, Red NIFI, Srikandi, and Aureus strains

	Uji tantang (Challenge test) (%/unit)					
	Sebelum (Before)			Sesudah (After)		
	Monosit Monocytes	Limfosit Lymphocytes	Netrofil Neutrophils	Monosit Monocytes	Limfosit Lymphocytes	Netrofil Neutrophils
Sultana	5	68	20	5	90	5
Red NIFI	9	64	27	15	65	20
Srikandi	8	55	35	0	95	5
Aureus	8	53	40	3	89	8



Tabel 4. Kondisi kualitas air selama penelitian ujiantang

Table 4. Water quality during challenge test

Strain	Parameter (Parameters)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sultana	28.8-29.0	4.2-5.4	8.00-8.02	0.05-0.13	4.0-6.0	0.0110	0.0948	0.785	20.00	156.00
Red NIFI	28.6-28.9	4.7-5.6	7.75-8.0	0.15-0.28	4.0-6.0	0.0143	0.1209	0.932	60.00	172.00
Srikandi	28.2-28.7	5.6-5.8	8.4-8.42	0.14-0.55	5.0-6.0	0.0140	0.0292	0.687	28.00	184.00
Aureus	28.3-28.8	5.6-5.7	8.22-8.37	0.03-0.17	6.0-7.0	0.0116	0.074	0.526	28.00	172.00

Keterangan (Note):

1 = Suhu (Temperature) (°C); 2 = Oksigen terlarut (Dissolved oxygen) (mg/L); 3 = pH; 4 = Konduktivitas (Conductivity) (S/m); 5 = Kekeruhan (Turbidity) (NTU); 6 = N-NH<sub>3</sub> (mg/L); 7 = Nitrit (Nitrite) (mg/L); 8 = Nitrat (Nitrate) (mg/L); 9 = Kesadahan total (Total hardness) (mg/L); 10 = Alkalinitas total (Total alkalinity) (mg/L)

kondisi pertahanan tubuh ikan telah membaik dan ikan telah berhasil bertahan dari serangan bakteri *S. agalactiae* (Rustikawati, 2012). Jumlah netrofil setelah uji tantang mengalami penurunan, karena tidak tercapainya aktivitas sel netrofil dalam mencapai dan menyerang antigen tidak terjadi fagositosis (Rustikawati, 2012). Berkurangnya sel netrofil diperkirakan berkurangnya infeksi akibat serangan antigen.

Hasil penelitian sesuai dengan pendapat Rustikawati (2012) yang menyatakan bahwa setelah proses infeksi, maka jumlah sel netrofil dapat ditekan, sel-sel mati dan jaringan nekrotik yang salah satunya mengandung netrofil yang telah mati dan secara bertahap akan mengalami autolisis dalam beberapa hari. Jumlah monosit setelah uji tantang mengalami penurunan, hal ini disebabkan respons keseimbangan darah terhadap peningkatan proporsi sel leukosit jenis yang lainnya (netrofil dan limfosit).

#### Kualitas Air

Beberapa parameter kualitas air sesuai dengan baku mutu untuk budidaya ikan (kelas III) sesuai dengan Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001. Nilai N-NH<sub>3</sub> berkisar antara 0,0110-0,0143 mg/L; nilai tersebut masih berada dalam batas kisaran baku mutu, yaitu kurang dari 0,02 mg/L (PP RI, 2001). Menurut PP No. 82 Tahun 2001 nilai baku mutu untuk nitrit sebesar 0,06 mg/L; akan tetapi nilai kadar NO<sub>2</sub> selama penelitian melebihi nilai baku mutu, yaitu 0,0145-0,1209 mg/L. Nilai nitrit melebihi nilai baku mutu disebabkan karena nitrit bersifat tidak stabil dengan keberadaan oksigen. Hasil penelitian menunjukkan nilai suhu, DO, dan pH masih berada dalam kisaran normal (Tabel 4). Nilai suhu dan pH selama penelitian berkisar antara 28°C-29°C dan 7-9. Nilai tersebut masih ada dalam kisaran normal (SNI, 2009). Nilai DO berkisar antara 4,0-6,0 mg/L. Nilai tersebut berada pada kisaran normal (PP RI, 2001). Nilai nitrat berkisar antara 0,5260-0,9320 mg/L; nilai tersebut masih

berada di bawah ambang batas, yaitu kurang dari 20 mg/L (PP RI, 2001). Nilai konduktivitas dan turbiditas berada pada kisaran 0,03-0,55 S/m dan 4,0-7,0 NTU. Nilai total kesadahan dan total alkalinitas berada pada kisaran 20,00-60,00 mg/L dan 156,00-184,00 mg/L.

#### KESIMPULAN

Uji tantang dari empat strain ikan nila diperoleh dua kandidat strain yang tahan terhadap *S. agalactiae*, yaitu: strain Red NIFI, dan Srikandi. Nilai mortalitas yang lebih rendah di antara strain yang lainnya yang mengindikasikan tingkat ketahanannya lebih baik dibandingkan strain yang lain. Strain Red NIFI mortalitasnya sebesar 24% dan Srikandi sebesar 36%. Kualitas air selama pemeliharaan menunjukkan kisaran normal. Hasil uji katalase, pewarnaan gram, dan marka molekular untuk konfirmasi gejala klinis ikan yang sakit, positif disebabkan oleh bakteri *S. agalactiae*. Secara umum, setelah injeksi, kadar limfosit mengalami kenaikan, netrofil mengalami penurunan, dan monosit mengalami penurunan.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh DIPA tahun anggaran 2012 Balai Penelitian Pemuliaan Ikan Sukamandi. Tim peneliti mengucapkan terima kasih kepada Kepala Balai Penelitian Pemuliaan Ikan, peneliti Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar (BPPBAT), beserta staf teknis yang telah banyak membantu.

#### DAFTAR ACUAN

- Amal, M.N.A., Saad, M.Z., Zahrah, A.S., & Sabri, M.Y. (2008). *Streptococcus agalactiae* isolation pattern from cage culture tilapia. *International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, 8, 1253-1256.
- Badan Standardisasi Nasional [BSN]. (1991). SNI 06-2480-1991. Pengujian kadar nitrat dalam air dengan alat spektrofotometer secara brusin sulfat. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta, 1 hlm.

- Badan Standardisasi Nasional [BSN]. (2004a). SNI 06-6989.9-2004. Air dan air limbah - Bagian 9: Cara uji nitrit ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ) secara spektrofotometri. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta, 14 hlm.
- Badan Standardisasi Nasional [BSN]. (2004b). SNI 06-6989.12-2004. Air dan air limbah - Bagian 12: Cara uji kesadahan total kalsium (Ca) dan magnesium (Mg) dengan metode titrimetri. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta, 11 hlm.
- Badan Standardisasi Nasional [BSN]. (2005). SNI 06-6989.30-2005. Air dan air limbah - Bagian 30: Cara uji kadar amonia dengan spektrofotometer secara fenat. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta, 11 hlm.
- Badan Standardisasi Nasional [BSN]. (2009). SNI 75 45.3:2009. Metode identifikasi bakteri pada ikan secara konvensional Bagian 3: *Streptococcus iniae* dan *Streptococcus agalactiae*. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta, 17 hlm.
- Duremdez, R., Al-Marzouk, A., Qasem, J.A., Al-Harbi, A., & Gharabally, H. (2004). Isolation of *Streptococcus agalactiae* from cultured silver pomfret, *Pampus argenteus* (Euphrasen) in Kuwait. *Journal of Fish Diseases*, 27, 307-310.
- Eldar, A.Y., Bejerano, A., Livoff, A., Horovitz, & Bercovier, H. (1995). Experimental Streptococcal meningo-encephalitis in cultured fish. *Veteriner. Microbiol.*, 43, 33-40.
- Evans, J.J., Klesius, P.H., Gilbert, P.M., Shoemaker, C.A., Al Sarawi, M.A., Landsberg, J., Duremdez, R., Al Marzouk, A., & Al Zenki, S. (2002). Characterization of b-hemolytic group B *Streptococcus agalactiae* in cultured sea bream, *Sparus auratus* L. and wild mullet, *Liza klunzingeri*, in Kuwait. *Journal of Fish Disease*, 25, 505-5113.
- Goddard, S. (1996). Feed management in intensive aquaculture. Chapman and Hall. New York, 194 pp.
- Gustiano, R., Arifin, O.Z., & Nugroho, E. (2008). Perbaikan pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan seleksi famili. *Media Akuakultur*, 3(2), 98-106.
- Harbi, A.H. (1996). Susceptibility of five spesies to *Streptococcus* sp. in Manila Philippines. *Journal Asian Fisheries Science*, 9, 177-181.
- Hardi, E.H. (2011). *Kandidat vaksin potensial Streptococcus agalactiae* untuk pencegahan penyakit streptococcosis pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Disertasi. Bogor: Program studi Ilmu Akuakultur, Institut Pertanian Bogor. Bogor, 182 hlm.
- Jangkaru, Z., Widiyati, A., Hardjamulia, A., Sukadi, F., Suhenda, N., Yuliati, P., Sutrisno, Taufik, P., & Haryani, Y.P. (1991). Petunjuk teknis budidaya ikan nila. Puslitbangkan. 62 hlm.
- Kelautan dan Perikanan dalam Angka. (2011). Kelompok kerja penyelarasan Data Kelautan dan Perikanan. 120 hlm.
- Peraturan Pemerintah. (2001). PP Nomor 82 Tahun 2001. Pengelolaan kualitas air dan pengendalian pencemaran air. Presiden Republik Indonesia, 13 hlm.
- Robisalmi, A., Dewi, R.R.S.P.S., & Setyawan, P. (2011). Uji tantang empat populasi ikan nila terhadap infeksi bakteri *Streptococcus agalactiae* di media bersalinitas. *Seminar Nasional Perikanan Indonesia*. Buku I: 1-7. Sekolah Tinggi Perikanan, Jakarta.
- Rustikawati, I. (2012). Efektivitas ekstrak *Sargassum* sp. terhadap diferensiasi leukosit ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi *Streptococcus iniae*. *Jurnal Akuakultur III*, hlm. 125-134.
- Salvador, R., Muller, E.E., Freitas, J.C., Leonhard, J.H., Pretto-Giordano, L.G., & Dias, J.A. (2005). Isolation and characterization of *Streptococcus* spp. group B in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* reared in hapas nets and earth nurseries in the northern region of Parana State, Brazil. *Ciencia Rural*, 35, 1374-1378.
- Sepahi, A., Heidarieh, M.M., Mirvaghefi, A., Rafiee, G.R., Farid, M., & Sheikhzadeh, N. (2013). Effects of water temperature on the susceptibility of rainbow trout to *Streptococcus agalactiae*. *Acta Scientiae Veterinae*, 41(1-5), 1097.
- Zahrah, A.S., Padilah, B., Azila, A., Rimatulhana, R., & Shahidan, R. (2008). Multiple streptococcal species infection in cage-cultured red tilapia but showing similar clinical signs. *In Disease in Asian Aquaculture VI*, Bondad-Reantaso, Mohan, M.C., Crumlish, M., & Subasinghe, R. (Eds.). Asian Fisheries Society, Manila, p. 313-320.
- Tauhid & Purwaningsih, U. (2011). Penapisan isolat bakteri *Streptococcus* spp. sebagai kandidat antigen dalam pembuatan vaksin serta efikasinya untuk pencegahan penyakit *Streptococcosis* pada ikan nila, *Oreochromis niloticus*, *J. Ris. Akuakultur*, 6(1), 103-118.
- Winarti. (2010). *Kerentanan ikan jelawat Leptobarbus hoevianii* Blkr. terhadap infeksi bakteri patogen. Tesis. Program studi Ilmu Akuakultur, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 128 hlm.