

EFEKTIVITAS ANTIBIOTIKA DAN VAKSIN DALAM PENANGGULANGAN PENYAKIT STREPTOCOCCOSIS PADA IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)

Hambali Supriyadi¹⁾, Taukhid²⁾, Ani Widiyati²⁾, dan Desy Sugiani²⁾

ABSTRAK

Penelitian dengan tujuan untuk mengetahui antibiotik yang efektif untuk pengobatan penyakit streptococcosis, serta mendapatkan cara pencegahan penyakit secara biologis yaitu melalui penggunaan vaksin telah dilakukan di Laboratorium Riset kesehatan Ikan Pasar Minggu. Tiga jenis antibiotika yaitu Neomycin, Oxytetracyclin, dan Enrofloxacin diuji efektivitasnya terhadap 4 isolat bakteri *Streptococcus iniae* yaitu Y2N7, Y2N9, GM2.4, dan S1N8 melalui uji zona hambatan dan konsentrasi hambat minimum (MIC). Uji imunogenitas diuji dengan cara pembuatan vaksin dari isolat yang digunakan yang kemudian dievaluasi *level* titer antibodi yang diproduksi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enrofloxacin merupakan antibiotik yang efektif terhadap semua isolat yang diuji, sedangkan neomycin efektif hanya untuk isolat Y2N7. Isolat GM2.4 relatif memiliki sifat imunogenitas lebih baik dibanding dengan isolat uji lainnya.

ABSTRACT: *The effectiveness of antibiotics and vaccine for the control of streptococcosis on nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). By: Hambali Supriyadi, Taukhid, Ani Widiyati, and Desy Sugiani*

Research with the aims to evaluate the effectiveness of several antibiotics against 4 (four) streptococcus iniae isolates, and evaluation of immunogenicity of those isolate to be used for disease control (vaccine) have been conducted at Fish Health Research Laboratory Pasar Minggu. The effectiveness of three antibiotics namely Neomycin, Oxytetracyclin, and Enrofloxacin have been tested against 4 (four) isolates Y2N7, Y2N9, GM2.4, and S1N8. The immunogenicity of those isolates were also tested by developing vaccine and evaluated through the production of antibody titer level. The results indicated that enrofloxacin was effective against all isolates tested, meanwhile neomycin only effective against isolate Y2N7. Isolate of GM2.4 was relatively immunogenic as compared to the other isolates.

KEYWORDS: *antibiotic effectiveness, immunogenicity, streptococcosis*

PENDAHULUAN

Penyakit ikan merupakan salah satu masalah yang sering timbul pada usaha budi daya ikan nila di keramba jaring apung (KJA). Seperti yang sering dilaporkan pada budi daya intensif di KJA, telah terjadi kematian pada ikan ukuran di atas 200 g dengan gejala mata menonjol, kulit mengalami pendarahan, dan bergerak seperti ayan.

Streptococcosis adalah penyakit akibat infeksi bakteri *Streptococcus* sp., merupakan satu di antara penyakit yang cukup membahayakan bagi beberapa spesies ikan budi daya baik di air tawar maupun di air laut. Di beberapa negara seperti Amerika Serikat terjadi pada hibrid ikan *Tilapia nilotica* x *Tilapia aurera* (Perera *et al.*, 1994) dan pada ikan *Oreochromis niloticus* (Bowser *et al.*, 1998). Selain itu di Jepang telah terjadi infeksi streptococcosis

¹⁾ Peneliti pada Pusat Riset Perikanan Budidaya, Jakarta

²⁾ Peneliti pada Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar, Bogor

pada ikan *Saroterodon niloticus* (Miyazaki *et al.*, 1984), sedangkan di Spanyol, Toranzo *et al.* (1994) melaporkan bahwa penyakit streptocociasis telah menginfeksi ikan *turbot* (*Scophthalmus maximus*). Kematian yang diakibatkannya baik pada ikan benih maupun pada ikan konsumsi dapat mencapai lebih dari 75% dari populasi (Perera *et al.*, 1994).

Penyakit ini selain sangat potensial merugikan karena menimbulkan kematian juga dilaporkan bahwa penyakit ini merupakan penyakit yang bersifat zoonotic (Weinsstein *et al.*, 1997 dalam Bowser *et al.*, 1998). Infeksi penyakit ini lebih banyak terjadi dan menimbulkan wabah pada ikan-ikan yang hidup di lingkungan yang kurang mendukung dan dalam keadaan stres.

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ikan nila sangat rentan terhadap infeksi penyakit bakterial antara lain akibat infeksi bakteri *Streptococcus iniae*. Penyakit ini telah banyak mengakibatkan kerugian berupa kematian baik pada ikan nila ukuran benih maupun konsumsi.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis antibiotik yang efektif bagi pengobatan penyakit streptococcosis, serta mendapatkan cara pencegahan penyakit secara biologis yaitu melalui penggunaan vaksin.

BAHAN DAN METODE

Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah 4 (empat) isolat yaitu Y2N7, Y2N9 (asal Yogyakarta), GM2.4 (asal Wonogiri), dan S1 N8 (asal Serang), semuanya merupakan koleksi Laboratorium Riset Kesehatan Ikan, Pasar Minggu. Sedangkan ikan uji menggunakan Nila GIFT hasil produksi Instalasi Riset Plasma Nutfah Perikanan Air Tawar, Cijeruk. Uji efektivitas antibiotika dilakukan secara *invitro* terlebih dahulu, yaitu dengan menggunakan beberapa antibiotika yaitu: neomycin, oxytetracyclin, dan enrofloxacin. Uji pendahuluan dilakukan dengan menggunakan cawan sensitivitas (*sensitivity dish test*), kemudian dilanjutkan dengan penelusuran dosis yang efektif melalui berbagai tingkatan dosis (2, 4, 6, 8, dan 10 mg/L), untuk menghasilkan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) yaitu konsentrasi yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus iniae*. Setelah dihasilkan dosis efektif kemudian dilakukan uji *invivo* pada ikan uji dengan berbagai tahapan dosis. Pengamatan dilakukan

terhadap sintasan ikan yang diperlakukan dan yang tidak diperlakukan.

Uji imunogenisitas dilakukan dengan cara membuat vaksin dari bakteri *Streptococcus iniae*, dengan sediaan sel utuh (*whole cells*) melalui metode inaktivasi formalin (*formalin killed*). Efektivitas vaksin diujikan pada ikan uji di tingkat laboratorium dengan berbagai tahapan dosis yaitu 10^4 , 10^6 , dan 10^8 cfu/mL. Pengamatan dilakukan terhadap antibodi yang timbul dan sintasan ikan yang divaksin kemudian dibandingkan dengan ikan yang tidak divaksin. Titer antibodi diamati dengan metode titrasi pada cawan mikro dengan menggunakan pengenceran seri. Setelah diketahui hasil titer antibodi yang dihasilkan kemudian diseleksi isolat yang paling tinggi titer antibodinya dan vaksin diaplikasikan pada ikan uji dengan dosis yang ditingkatkan menjadi 10^7 , 10^9 , dan 10^{11} cfu/mL.

HASIL DAN BAHASAN

Hasil uji pendahuluan terhadap tiga jenis antibiotika secara deskriptif menunjukkan bahwa enrofloxacin merupakan antibiotik yang paling tinggi daya hambatnya terhadap semua isolat yang diuji terutama isolat Y2N7. Hal ini dapat terjadi karena beberapa bakteri memiliki ketahanan yang berbeda terhadap antibiotika, atau efektivitas suatu antibiotika tidak akan sama terhadap beberapa isolat bakteri karena mungkin bakteri pernah terekspos sebelumnya terhadap antibiotika tersebut untuk beberapa saat, sehingga resistensinya meningkat.

Hasil uji konsentrasi hambatan minimum (MIC) untuk beberapa antibiotik seperti tersebut di atas secara deskriptif menunjukkan bahwa enrofloxacin merupakan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada *level* konsentrasi yang cukup rendah (Tabel 1 dan 2.). Hal ini menunjukkan bahwa antibiotik tersebut sangat efektif terhadap semua bakteri uji. Selain itu juga menunjukkan bahwa resistensi belum terbentuk pada bakteri uji. Enrofloxacin merupakan antibiotika sintetik yang mempunyai kemampuan untuk menghambat sintesa DNA bakteri. Dengan nilai MIC yang sangat rendah maka antibiotik tersebut relatif aman untuk dipakai dalam pengobatan sepanjang pemakaiannya mengikuti prosedur yang benar. Selain enrofloxacin, neomycin juga memiliki MIC yang rendah terutama terhadap bakteri Y2N7. Namun antibiotik tersebut kurang efektif bagi bakteri uji yang lain.

Tabel 1. Zona hambatan beberapa antibiotika (mm) terhadap 4 (empat) isolat *Streptococcus iniae*

Table 1. Inhibition zone of some antibiotics (mm) against 4 (four) isolates *Streptococcus iniae*

Jenis antibiotik <i>Antibiotic</i>	Zona hambatan (mm) untuk isolat <i>Inhibition zone (mm) against isolate</i>			
	Y2N7	Y2N9	GM24	S1N8
Neomycin	25	25	17	20
Enrofloxacin	29	25	25	23
Oxytetracyclin	20	25	25	25

Tabel 2. Konsentrasi hambatan minimum beberapa antibiotik terhadap beberapa isolat *Streptococcus iniae*

Table 2. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of several antibiotics against some isolates of *Streptococcus iniae*

Jenis antibiotik <i>Antibiotic</i>	Nilai MIC (mg/L) terhadap isolat <i>Minimum inhibitory concentration (mg/L) against</i>			
	Y2N7	Y2N9	GM24	S1N8
Neomycin	1	4	6	4
Enrofloxacin	2.5	1	1	2.5
Oxytetracycli	5	5	5	5

Uji patogenitas (Tabel 3) ternyata menunjukkan tidak ada beda di antara keempat isolat yang diuji. Dari data tersebut juga menunjukkan bahwa umumnya isolat tersebut relatif tidak patogen terhadap ikan uji, terlihat dari tingginya sintasan ikan uji setelah diinfeksi oleh masing-masing bakteri. Di alam pun pada kondisi kepadatan ikan tinggi streptococcosis hanya menimbulkan kematian setinggi 30%. Namun pada kondisi lingkungan yang kurang mendukung maka penyakit ini dapat menimbulkan kematian ikan sebesar 75%. Kematian yang rendah ini karena ikan diinfeksi pada kondisi lingkungan yang relatif baik yaitu dengan kepadatan yang tidak terlalu tinggi dan kadar oksigen yang mencukupi. Selain itu faktor lain yang berpengaruh yaitu pasase (pemindahan isolat dari suatu media ke media yang baru) yang terlalu sering dilakukan di laboratorium, dapat menurunkan sifat patogenitas dari suatu isolat. Untuk meningkatkan patogenitas suatu isolat biasanya dilakukan dengan cara menginfeksi kembali (reinfeksi) kepada inang, dan setelah ikan menunjukkan gejala klinis terinfeksi, kemudian dilakukan isolasi kembali dan diidentifikasi. Selain itu, patogenitas juga dapat

ditingkatkan melalui penanaman pada *Blood Agar*. Cara tersebut yang dilakukan dalam penelitian ini, karena dianggap paling mudah dilakukan dan kemungkinan untuk tertukar dengan bakteri patogen lain sangat kecil.

Uji *invivo* dari efektivitas enrofloxacin pada ikan nila yang telah diinfeksi dengan bakteri GM2.4 dan Y2N9 seperti terlihat pada Tabel 4, terlihat bahwa enrofloxacin sangat efektif terutama untuk bakteri GM2.4. Hal ini terbukti dari sintasan ikan yang diberi antibiotik dengan ikan yang tidak diberi antibiotik berbeda sangat nyata. Sedangkan antar dosis antibiotik yang digunakan tidak berbeda. Artinya dengan dosis yang paling rendah pun (2,5 mg/L) sudah efektif.

Seleksi immunogenisitas dilakukan dengan cara membuat vaksin dari semua isolat uji dan disuntikkan kepada ikan uji dengan berbagai dosis. Setelah penelusuran reaksi tanggap kebal melalui uji titer antibodi ternyata didapat bahwa isolat GM2.4 memiliki sifat lebih "immunogenik", artinya isolat ini lebih tinggi dalam menimbulkan kekebalan yang digambarkan dengan pembentukan titer antibodi

Tabel 3. Uji patogenitas 4 (empat) isolat bakteri *Streptococcus iniae* terhadap ikan nila

Table 3. Test of pathogenicity of 4 (four) isolates of *Streptococcus iniae* on Nile tilapia

Isolat Isolate	Sintasan ikan uji (%) pada konsentrasi bakteri (cfu/mL) Survival rate of fish (%) at different densities of bacteria (cfu/mL)		
	106	108	1,010
S1N8	85	96	85
Y2N7	95	95	90
Y2N9	90	95	90
GM2.4	95	80	90

Tabel 4. Sintasan ikan (%) yang terinfeksi setelah diperlakukan dengan enrofloxacin

Table 4. Survival rate (%) of infected fish after treated with enrofloxacin

Dosis obat Dosage (mg/L)	Sintasan ikan (%) ikan terinfeksi setelah diobati *) Survival (%) of infected fish after treatment	
2.5	95	100
5	100	93
7.5	100	100
Kontrol (untreated)	61.4	81.4

Keterangan (Note): *) nilai rata-rata dari 3 ulangan (the average of 3 replicates)

Tabel 5. Level titer antibodi pada serum darah ikan uji yang dievaluasi setiap minggu

Table 5. Antibody titer levels of treated fish serum evaluated for every week

Dosis Dosage (cfu/mL)	Nilai titer antibodi Levels of antibody titer										
	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1,024
Minggu I											
Kontrol				8							
107				8							
109			4								
1,011					16						
Minggu II											
Kontrol		2									
107			4								
109				8							
1,011					16						
Minggu III											
Kontrol		2									
107			4								
109						32					
1,011								128			

yang paling tinggi. Dari hasil tersebut kemudian dikembangkan dengan meningkatkan dosis vaksin, kemudian ditelusuri produksi titer antibodi untuk setiap minggu seperti terlihat pada Tabel 5. Dari hasil tersebut terlihat bahwa nilai titer antibodi tertinggi diperoleh dari dosis vaksin 10^{11} cfu/mL pada minggu ke-III. Dosis tersebut secara teknis dan ekonomis terlalu tinggi karena biasanya beberapa jenis vaksin dosis yang diberikan sekitar 10^7 - 10^8 cfu/mL. Hal ini dimungkinkan bahwa isolat *Streptococcus iniae* yang dipakai bersifat kurang imunogenik apabila dibandingkan dengan jenis antigen yang lain seperti *Aeromonas hydrophila* yang memiliki dosis vaksin efektif 10^7 cfu/mL (Supriyadi & Rukyani, 1990; Supriyadi & Shariff, 1995).

Uji tanggap kebal melalui ujiantang pada ikan yang divaksin dan ikan yang tidak divaksin ternyata tidak mendapat hasil yang memuaskan. Hal ini terlihat setelah ikan diuji tanggap dengan antigen secara injeksi ternyata tidak menimbulkan kematian pada ikan uji baik pada ikan yang divaksin maupun kontrol. Keadaan tersebut mungkin merupakan akibat dari menurunnya aktivitas patogenitas isolat yang digunakan untuk ujiantang, walaupun isolat tersebut telah mengalami peningkatan patogenitas dengan melalui aktivasi pada media *Blood Agar* sebanyak 3 kali.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian ini maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Enrofloxacin merupakan antibiotik yang baik untuk menanggulangi streptococcosis dengan cara khemoterapi, namun pemakaian antibiotik tersebut hendaknya dipertimbangkan sebagai alternatif akhir dan diaplikasikan dengan melalui prosedur yang tepat.

2. Isolat GM2.4 cukup imunogenik untuk dapat digunakan sebagai bahan pembuatan vaksin.
3. Isolat uji *Streptococcus iniae* memiliki patogenitas yang rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Bowser, P.R., G.A. Wooster, R.G. Getchell, and M.B. Timmons. 1998. *Streptococcus innae* Infection of Tilapia *Oreochromis niloticus* in a recirculation production facility. *Journal of The World Aquaculture*, 29(3): 335—339.
- Miyazaki, T., S.S. Kubota., N. Kaige, and T. Miyashita. 1984. A Histopathology Study of Streptococcal disease in Tilapia. *Fish Pathology*, 19(3): 167—172.
- Perera, R.P., S.K. Johnson, M.D. Collins, and D.H. Lewis. 1994. *Streptococcus iniae* Associated with Mortality of *Tilapia nilotica* x *T. aurea* Hybrids. *J. Aquatic Animal Health*, 6: 335—340.
- Supriyadi, H. dan A. Rukyani. 1990. Immunopropilaksis dengan cara vaksinasi pada usaha budi daya ikan. *Seminar Nasional Ke-II, Penyakit Ikan dan Udang, Bogor*. 16—18 Januari 1990, 7 pp.
- Supriyadi, H. and M. Shariff. 1995. Evaluation of the immune response and protection conferred in walking catfish, *Clarias batrachus* administered inactivated *Aeromonas hydrophila* bacterin by immersion. In *Diseases in Asian Aquaculture II*. M. Shariff, J.R. Arthur & R.P. Subasinghe (Eds.) *Fish Health Section*, Asian Fisheries Society, Manila, p. 405—412.
- Toranzo, A.E., S. Devesa, P. Heinen, A. Riaza, S. Nunez, and J.L. Barja. 1994. Streptococcosis in cultured turbot caused by an *Enterococcus*-like bacterium. *Bull. Eyr. Ass. Fish. Pathol.*, 14 (1):19—23.