

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jra>

POLA INFEKSI *Streptococcus agalactiae* STRAIN NP1050 DAN N₁₄G PADA IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)

Achmad Suhermanto^{*)#}, Suhermin^{**}), Ridwan^{***}), Indri Astuti^{****}), dan Iis Nurmawanti^{*****})

^{*)} Politeknik Kelautan dan Perikanan Sorong, KKD-BP Kesehatan Ikan dan Lingkungan
Jl. K. Pattimura, Tj. Kasuari, Sorong, Papua Barat
E-mail: achmadsuhermanto@kkp.go.id

^{**)} Stasiun Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Palangkaraya
Jl. Adonis Samad, Panarung, Pahandut, Palangka Raya, Kalimantan Tengah 74874

^{***)} Stasiun Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas II Bima
Jl. Sultan Salahuddin Airport, Palibelo Bima Nusa Tenggara Barat

^{****)} Balai Perikanan Budi Daya Air Tawar Sungai Gelam Jambi
Jl. Iswahyudi, No. 06, Pasir Putih - Chandra, Pasir Putih, Kec. Jambi Selatan, Jambi 36126

^{*****)} Balai Perikanan Budidaya Air Tawar Mandiangin
Jl. Tahura Sultan Adam Km. 14, Mandiangin Barat, Karang Intan, Cempaka, Banjar, Kalimantan Selatan 70661

(Naskah diterima: 8 Oktober 2019; Revisi final: 5 Desember 2019; Disetujui publikasi: 6 Desember 2019)

ABSTRAK

Infeksi *Streptococcosis* yang disebabkan oleh bakteri patogen *Streptococcus agalactiae* dengan karakteristik strain berbeda menjadi permasalahan utama pada budidaya ikan nila. Penelitian ini bertujuan untuk menelaah pola infeksi bakteri *S. agalactiae* strain NP1050 dan N₁₄G, melalui performa organ target, gejala klinis, serta hematologi ikan nila *Oreochromis niloticus*. Karakterisasi *S. agalactiae* berdasarkan pada SNI dan API 20 STREP, uji pertumbuhan bakteri dilakukan dengan metode *total plate count* (TPC). Pengujian eksistensi bakteri dengan cara menginjeksikan *S. agalactiae* secara *intrapertitoneal* (IP) dengan konsentrasi 10⁷ CFU.mL⁻¹, dan pengamatan dilakukan dengan pengambilan darah dan dikultur di media BHIA. Hasil uji biokimia dan konfirmasi menggunakan API 20 STREP menunjukkan bahwa isolat terkonfirmasi positif sebagai *S. agalactiae*, dan NP1050 dideteksi sebagai bakteri β-hemolitik. Pertumbuhan bakteri NP1050 lebih cepat daripada N₁₄G, namun eksistensi di darah masing-masing selama 72 jam dan 24 jam. Hasil pengamatan performa darah menunjukkan bahwa glukosa dan leukosit mengalami peningkatan signifikan masing-masing 53,5 ± 2,12 mg.dL⁻¹ dan 6,51 ± 0,89 (10⁵ sel.mm⁻³), sedangkan hematokrit dan eritrosit mengalami penurunan signifikan (P<0.05) masing-masing 21,10 ± 0,07% dan 14 ± 4,5 (10⁵ sel.mm⁻³) pascainjeksi *S. agalactiae*. Gejala klinis pascainfeksi berupa *melanosis*, respons lambat, *anorexia*, *ocular opacity*, *purulens*, unilateral atau bilateral eksophtalmia, *gaspings*, *erratic*, *C-shape*, dan *whirling*. Pola infeksi *S. Agalactiae* strain NP1050 dan N₁₄G berbeda pada ikan nila, dan sangat dipengaruhi oleh keberadaan bakteri pada organ ginjal, otak, dan mata.

KATA KUNCI: ikan nila; infeksi; organ; *Streptococcus agalactiae*

ABSTRACT: *Patterns of Streptococcus agalactiae* infection on tilapia (*Oreochromis niloticus*). By: Achmad Suhermanto, Suhermin, Ridwan, Indri Astuti, and Iis Nurmawanti

Streptococcosis infection caused by different strains of pathogenic bacteria *Streptococcus agalactiae* has been a major problem in tilapia culture. This research aimed to examine the patterns of *S. agalactiae* infection of NP1050 and N₁₄G strains, through targeted organ performance, clinical symptoms and hematological signs of tilapia, *Oreochromis niloticus*. The characterization of *S. agalactiae* was based on SNI and API 20 STREP. Bacterial growth test was carried out using the total plate count (TPC) method. Bacterial infection was performed by injecting *S. agalactiae* intraperitoneally (IP) with a concentration of 10⁷ CFU.mL⁻¹, and the observations were carried out by extracting and

Korespondensi: Politeknik Kelautan dan Perikanan Sorong, KKD-BP Kesehatan Ikan dan Lingkungan. Jl. K. Pattimura, Tj. Kasuari, Sorong, Papua Barat, Indonesia
Tel. + 62 951 333741
E-mail: achmadsuhermanto@kkp.go.id

culturing the fish blood in BHIA media. The result of the biochemical test and API 20 STREP confirmed that the isolates was identified as *S. agalactiae* and NP1050 strain was detected as β -hemolytic bacteria. The growth of NP1050 strain was faster than N₁₄G strain, where their clear presence in blood was observed at 72 and 24 hours, respectively. The result of hematological parameters showed that glucose and leukocytes increased significantly with values of $53.5 \pm 2.12 \text{ mg.dL}^{-1}$ and $6.51 \pm 0.89 (10^5 \text{ cell.mm}^{-3})$, respectively. On the other hand, hematocrit and erythrocytes decreased significantly ($P < 0.05$) $21.10 \pm 0.07\%$ and $14 \pm 4.5 (10^5 \text{ cell.mm}^{-3})$ post-*S. agalactiae* injection. Clinical signs post-infection consisted of melanosis, slow response, anorexia, ocular opacity, purulence, unilateral or bilateral exophthalmos, gasping, erratic movement, C-shape and whirling. NP1050, and N₁₄G strains show different patterns of infections on tilapia and strongly influenced by the presence of bacteria in the kidneys, brain, and eyes.

KEYWORDS: infection; organ; *Streptococcus agalactiae*; tilapia

PENDAHULUAN

Budidaya ikan nila menjadi tumpuan sektor budi daya ikan air tawar nasional. Produksi ikan nila setiap tahun mengalami peningkatan dan dari tahun 2011-2017 tercatat sebesar 111,61% (DJPB, 2018). Upaya peningkatan produksi melalui intensifikasi budidaya berdampak pada risiko mewabahnya infeksi *streptococcosis* yang dominan disebabkan *Streptococcus agalactiae* pada budi daya ikan nila di dunia termasuk Indonesia (Lusiastuti *et al.*, 2014; Pradeep *et al.*, 2016). Infeksi *streptococcosis* pada ikan nila memiliki gejala klinis khas yaitu peradangan otak (*meningoensefalitis*), mata menonjol (*pop-eye*), unilateral atau bilateral eksophtalmia, tulang belakang melengkung membentuk huruf C, berenang tidak menentu (*erratic*), dan berenang berputar (*whirling*) (Al Harbi, 2016; Suhermanto *et al.*, 2019). Dampak kerugian yang ditimbulkan secara ekonomi di Indonesia sebesar Rp15 milyar per tahun dengan kematian ikan nila sekitar 20%-60% (Taukhid, 2018; Suhermanto, 2019).

Infeksi *S. agalactiae* terjadi di berbagai sentra budidaya ikan nila di Indonesia, menginfeksi ikan berbagai stadia maupun ukuran, dan diidentifikasi berasal dari golongan biotipe-1 (β -hemolitik) dan biotipe-2 (non-hemolitik). *S. agalactiae* β -hemolitik ditemukan menyerang ikan nila ukuran konsumsi dan calon induk di Papua, Kalimantan Selatan, dan Jambi, sedangkan tipe non-hemolitik ditemukan di Pulau Jawa dan Gorontalo (Suhermanto *et al.*, 2019). Kedua tipe bakteri tersebut dapat dibedakan secara fenotipe, yaitu *S. agalactiae* tipe β -hemolitik dapat melisis media *blood agar* (Suhermanto *et al.*, 2018).

Penelitian tentang patogenisitas *S. agalactiae* telah dilakukan dan keberadaan gen virulen, serta komponen eksotoksin *extracellular product* (ECP) menjadi salah satu faktor penting penyebab kematian ikan nila (Delannoy *et al.*, 2014; Kayansamruaj *et al.*, 2014; Kannika *et al.*, 2017; Suhermanto *et al.*, 2018). Penelitian pola infeksi dan keberadaan *S. agalactiae* pada organ target ikan nila hingga menyebabkan gejala klinis, dan perubahan parameter hematologi belum banyak ditelaah. Kajian ini diperlukan sebagai upaya

tindakan preventif yang harus dilakukan saat terjadi infeksi *streptococcosis* dan dapat memberikan informasi penting untuk pembuatan vaksin dan vaksinasi.

Penelitian ini bertujuan untuk menelaah pola infeksi bakteri *S. agalactiae* NP1050 dan N₁₄G, melalui pengamatan performa organ target, gejala klinis, serta hematologi ikan nila (*O. niloticus*).

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan dari bulan November 2018 sampai April 2019 di Instalasi Riset Pengendalian Penyakit Ikan (IRP2I) Depok, Jawa Barat.

Ikan Uji

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) strain Bogor Enhanced Strain of Tilapia (BEST) digunakan sebagai ikan uji dengan bobot 12-15 g, dipelihara dengan kepadatan 20 ekor/akuarium berukuran 60 cm x 35 cm x 35 cm, dan ketinggian air 25 cm. Aklimatisasi dilakukan selama 14 hari hingga ikan siap digunakan. Ikan uji bebas patogen atau *specific pathogen free* (SPF) terhadap bakteri *S. agalactiae*. Ikan uji dipelihara secara selektif mulai dari seleksi telur, desinfektan telur, dan media pemeliharaan, serta secara berkala dilakukan pengujian pada lima ekor ikan nila dengan mengisolasi organ mata, otak, dan ginjal ikan kemudian dikultur pada media *brain heart infusion agar* (BHIA), hasilnya tidak ditemukan *S. agalactiae* pada semua organ.

Bakteri

Bakteri *S. agalactiae* NP1050 diisolasi dari ikan nila yang berasal dari Danau Sentani, Papua dan N₁₄G diperoleh saat terjadi wabah *streptococcosis* di Danau Cirata, Cianjur, Jawa Barat. Bakteri dikultur di media BHIA (Oxoid Ltd, UK) dan diinkubasi pada suhu 28°C selama 24 jam (SNI 7545.3, 2009). Optimalisasi performa karakter bakteri dilakukan dengan uji *postulat koch's* sebanyak dua kali pada ikan nila.

Pengujian fenotipe *S. agalactiae* berdasarkan SNI 7545.3 (2009). Uji konfirmasi menggunakan API 20 *strep system* (bioMérieux Industry, Hazelwood, USA). Data yang diperoleh diidentifikasi menggunakan API

20 STREP V7.0 Software (<https://apiweb.biomerieux.com>).

Pengujian Bakteri pada Ikan Nila

Pengujian dilakukan dengan menginjeksikan *S. agalactiae* yang telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 29°C-30°C secara IP pada 20 ekor ikan nila dengan dosis 10⁷ CFU.mL⁻¹. Pascainjeksi, ikan dipelihara selama 14 hari dan dilakukan pengamatan gejala klinis, serta perubahan hematologi.

Uji Pertumbuhan Bakteri

Isolat bakteri *S. agalactiae* NP1050 dan N₁₄G diuji dengan menumbuhkan di media *brain heart infusion* (BHI) kemudian diinkubasi dalam *stuart orbital incubator* selama masa pengamatan (36 jam). Pengamatan dilakukan dengan rentang waktu empat jam hingga bakteri mencapai fase penurunan. Bakteri pada media BHI selama *log phase* menjadi stok awal, selanjutnya dilakukan pengenceran serial, disebar dalam BHIA, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 29°C-30°C, dan dihitung kepadatannya menggunakan metode *total plate count* (TPC).

Uji Eksistensi Bakteri pada Darah Ikan

Pengambilan darah ikan dilakukan menggunakan *syring terumo* 1 mL pada jam ke-1, 2, 4, 6, 12, 24, 48, dan 72. Dengan menggunakan ose, darah ikan digoreskan dalam media BHIA, kemudian diinkubasi pada suhu 29°C-30°C selama 24 jam, 48, dan 72 jam dan dilakukan pengamatan.

Uji Pertumbuhan Bakteri pada Organ Target

Pascainjeksi bakteri NP1050 dan N₁₄G, dilakukan pengamatan dan uji pertumbuhan bakteri pada organ target ginjal, otak, dan mata. Ikan dianestesi menggunakan minyak cengkeh, kemudian dilakukan isolasi organ target dan dilakukan pengenceran menggunakan larutan PBS g/mL. Selanjutnya dilakukan pengenceran berseri (*serial dilution*) dan sebanyak 100 µL organ yang telah diencerkan dikultur pada media BHIA, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 29°C-30°C. Penghitungan pertumbuhan bakteri menggunakan metode *total plate count* (TPC). Pengamatan dan penghitungan pertumbuhan bakteri dilakukan mulai jam ke-1, 2, 4, 6, 12, 24 (H-1), 48 (H-2), 168 (H-7), dan 336 (H-14).

Gejala Klinis

Gejala klinis yang diamati pascainfeksi *S. agalactiae* berupa gejala makroskopis antara lain: pola berenang, perubahan anatomi organ luar (kondisi permukaan tubuh, kondisi mata, dan warna tubuh).

Analisis Performa Darah Ikan Nila

Analisis performa darah dilakukan dengan mengamati sampel darah dari ikan perlakuan pada hari (H-) ke-0, 7, dan 14. Sampel darah diambil menggunakan *syring* 1-mL dan dimasukkan langsung dalam *microtube*, kemudian dilakukan penghitungan sel darah putih dan merah menggunakan haemositometer (*neubauer*), kadar hematokrit (Ht) diukur dengan metode mikrohematokrit (Stoskopf, 1993). Pengukuran kadar glukosa darah mengacu pada Wedemeyer & Yasutake (1977).

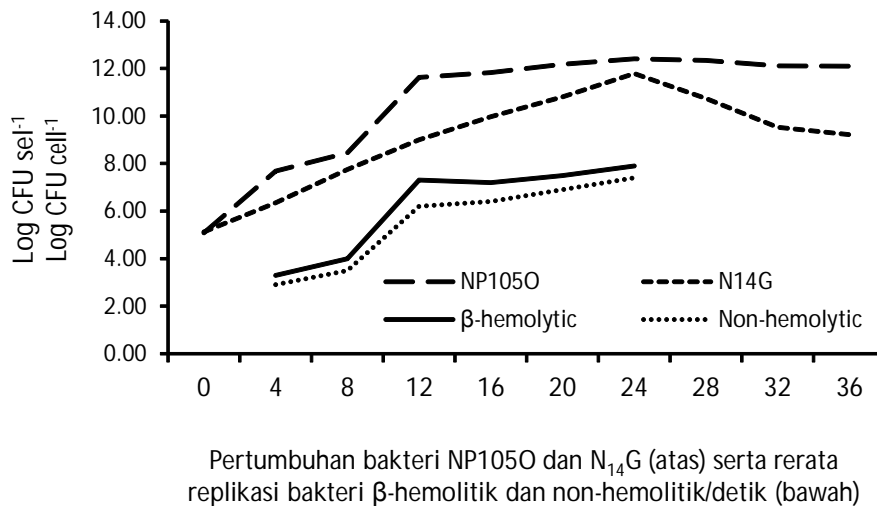
Analisis Data

Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental terdiri atas tiga perlakuan dengan tiga ulangan. Data yang diperoleh ditabulasi dan dianalisis menggunakan program *Microsoft excel* 2013. Pengaruh perlakuan dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA) dengan bantuan *Software Minitab* versi 17. Analisis yang menunjukkan pengaruh nyata, dilanjutkan dengan uji *Fisher* pada taraf kepercayaan 95%. Hasil uji pertumbuhan pada media BHIA dan organ target, biokimia dan API 20 STREP dianalisis secara deskriptif kualitatif.

HASIL DAN BAHASAN

Karakteristik kedua bakteri berdasarkan hasil uji biokimia antara lain sel berbentuk kokus, Gram positif, katalase, dan motilitas negatif, positif tumbuh di media *bile salt* 40% dan NaCl 6,5%; negatif uji D-Mannitol dan Aesculin. Hasil uji tumbuh pada media *blood agar* menunjukkan karakter berbeda pada kedua isolat. Bakteri *S. agalactiae strain* NP1050 mempunyai kemampuan untuk melisis media *blood agar*, termasuk dalam kelompok tipe β-hemolitik, sedangkan isolat *S. agalactiae strain* N₁₄G tidak melisis darah, tergolong tipe non-hemolitik. Karakterisasi biokimia bakteri *S. agalactiae* pada ikan nila menunjukkan hasil yang relatif sama dengan penelitian sebelumnya (Anshary *et al.*, 2014; Kannika *et al.*, 2017; Suhermanto *et al.*, 2019). Hasil uji API 20 STREP menunjukkan bakteri α-hemolitik NP1050 memiliki kemampuan menghidrolisis gula lebih banyak yaitu *acetoin* (VIP), *hipuric acid*, *arginindihidrolase*, *ribose*, *trehalose*, dan *amidon/starch*. Sebaliknya, bakteri non-hemolitik N₁₄G mampu menghidrolisis *acetoin* (VIP), *hipuric acid*, *arginindihidrolase*, *ribose*, dan *alkaline phosphatase*. Kemampuan bakteri dalam menghidrolisis gula pada uji API 20 STREP kemungkinan berkorelasi positif terhadap kemampuan bakteri dalam memanfaatkan glukosa dalam tubuh inang sebagai sumber energi.

Hasil uji pertumbuhan bakteri pada media BHIA disajikan pada Gambar 1. Pertumbuhan bakteri fase awal/lag di mulai dari jam ke-0—8, pada bakteri NP1050 fase logaritma di mulai dari jam ke-8—20,



Gambar 1. Pertumbuhan *S. agalactiae* strain NP1050 dan N₁₄G secara *in vitro* pada media BHI.

Figure 1. Growth of *S. agalactiae* NP1050 and N₁₄G strains *in vitro* on BHI media.

sedangkan bakteri N₁₄G dari jam ke-12—20. Fase stasioner bakteri NP1050 dari jam ke-20—28 konsentrasi 10¹² CFU.mL⁻¹, bakteri N₁₄G pertumbuhan optimal pada jam ke-24 dengan konsentrasi 10⁹ CFU.mL⁻¹, selanjutnya mengalami penurunan mulai jam ke-36.

Replikasi pertumbuhan sel baru bakteri NP1050 lebih cepat dibandingkan N₁₄G. Hasil penghitungan replikasi bakteri NP1050 pada jam ke-4, 8, 12, 16, 20, dan 24 masing-masing sebesar 2,2 x 10³; 1,1 x 10⁴; 1,9 x 10⁷; 1,7 x 10⁷; 3,2 x 10⁷; 7,1 x 10⁷ CFU.detik⁻¹; sedangkan bakteri N₁₄G masing-masing 7,5 x 10²; 3,1 x 10³; 1,5 x 10⁶; 2,7 x 10⁶; 8,1 x 10⁶; 2,2 x 10⁷ CFU.detik⁻¹. Hasil penelitian yang sama dilakukan Delannoy *et al.* (2013) dan Suhermanto *et al.* (2019) bahwa *S. agalactiae* β-hemolitik memiliki pertumbuhan lebih cepat dibandingkan bakteri tipe non-hemolitik. Pola pertumbuhan bakteri yang berbeda pada media BHIA kemungkinan besar berpengaruh terhadap pola pertumbuhan pada organ target.

Hasil uji pertumbuhan bakteri pada organ target yaitu ginjal, otak, dan mata disajikan pada Gambar 2.

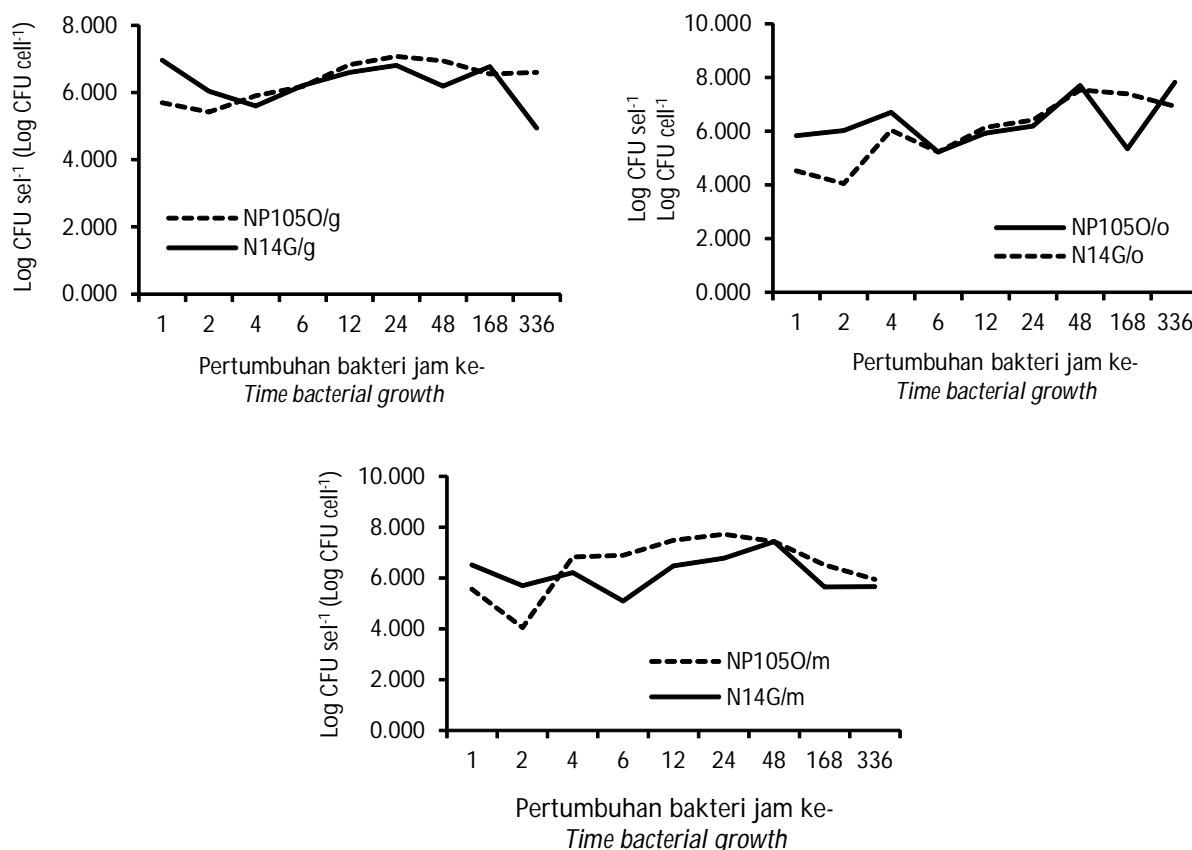
Gambar 2 menunjukkan perbedaan pola serangan dan pertumbuhan bakteri NP1050 dan N₁₄G pada organ target. Bakteri NP1050 mampu melisis darah pada inang, selanjutnya menuju organ target, sedangkan bakteri N₁₄G lebih awal menuju organ target yaitu ginjal, otak, dan mata. Pertumbuhan kedua bakteri di ginjal, fase log dimulai dari jam ke-4—24 pascainjeksi *S. agalactiae*, sedangkan fase stasioner dari jam ke-48—336. Pertumbuhan di organ otak, fase log dimulai

dari jam ke-6-48, fase stasioner mulai jam ke-48 hingga akhir pemeliharaan. Bakteri *S. agalactiae* tumbuh pada organ mata mulai jam ke-6-48, selanjutnya mengalami fase stasioner dan penurunan. Pertumbuhan bakteri cenderung berfluktuasi terutama pada organ otak. Pertumbuhan tertinggi kedua bakteri di semua organ berada pada konsentrasi 10⁷ CFU.mL⁻¹.

Bakteri NP1050 dan N₁₄G mengalami pertumbuhan yang cepat pada media BHIA dibandingkan pada organ ikan nila (Gambar 1 dan 2). *S. agalactiae* tumbuh optimal hingga konsentrasi 10¹² CFU.mL⁻¹ pada media yang mengandung nutrisi sesuai kebutuhan, sedangkan pada organ target konsentrasi lebih rendah 10⁷ CFU.mL⁻¹ disebabkan keterbatasan nutrisi dan adanya organ hematopoietik yang berfungsi memproduksi sel-sel darah sebagai komponen imunitas bawaan (*innate immunity*) yang dapat melisis bakteri. Perbedaan pada kedua bakteri kemungkinan berpengaruh terhadap gejala klinis yang ditimbulkan, serta perubahan parameter hematologi darah ikan nila.

Uji eksistensi kedua bakteri di darah ikan nila menunjukkan hasil yang berbeda (Tabel 1). Eksistensi bakteri NP1050 di darah hingga jam ke-72, berbeda dengan bakteri N₁₄G ditemukan di darah hingga jam ke-24, sedangkan pada jam ke-48 dan 72 hasilnya negatif.

Bakteri NP1050 merupakan bakteri β-hemolitik identik dengan biotipe 1a, dan memiliki gen virulen spesifik yaitu *cylE* (*β-hemolysin*) (Suhermanto, 2019). Bakteri ini memerlukan unsur Fe yang dibutuhkan



Gambar 2. Pertumbuhan *S. agalactiae* strain NP105O dan N₁₄G pada organ ginjal (A), otak (B), dan mata (C).

Figure 2. Growth of *S. agalactiae* NP105O and N₁₄G strains in the kidneys, brain and eyes.

untuk pertumbuhan, melisis darah dan meningkatkan faktor virulensi (D'Urzo *et al.*, 2014; Rosini & Margarit, 2015; Suhermanto, 2019). *S. agalactiae* tipe non-hemolitik N₁₄G tidak mampu melisis darah, sehingga ketika bakteri ini diinjeksikan ke ikan nila, langsung bergerak mengikuti aliran darah menuju organ target. Hasil identifikasi keberadaan *S. agalactiae* N₁₄G di darah ikan nila yang dilakukan dengan metode *loop-mediated isothermal amplification* (LAMP) menunjukkan bahwa pada jam ke-24 bakteri masih berada di darah ikan nila (Caruso & Pepey, 2018).

Perbedaan polainfeksi kedua bakteri memberikan dampak gejala klinis yang muncul cepat pada ikan nila

yang diinjeksi bakteri NP105O yaitu *melanosis*, respons lambat, *anorexia* umumnya terjadi 2-3 jam pascainjeksi, sedangkan bakteri N₁₄G memberikan dampak gejala yang sama namun terjadi sekitar dua hari pascainjeksi. Gejala khas *streptococcosis* lainnya: *ocular opacity*, *purulens*, unilateral atau bilateral eksoptalmia, *gasp-ing*, *erratic*, *C-shape*, dan *whirling* muncul pada ikan nila sekitar 4-14 hari pascainjeksi. Terjadinya gejala klinis pada ikan nila sebagai dampak infeksi *S. agalactiae*, kemungkinan tidak terjadi secara parsial, namun ada korelasi positif di semua organ dalam tubuh ikan. Su *et al.* (2017) menyatakan adanya korelasi positif antara kerusakan yang terjadi di otak dan mata, serta

Tabel 1. Eksistensi *S. agalactiae* strain NP105O dan N₁₄G pada darah ikan nila
Table 1. The presence of *S. agalactiae* NP105O and N₁₄G strains in tilapia blood

Bakteri (Bacteria)	Jam ke- (Hours)							
	1	2	4	6	12	24	48	72
NP105O	+	+	+	+	+	+	+	+
N ₁₄ G	+	+	+	+	+	+	-	-

Keterangan (Note): (+) ditemukan (*found*); (-) tidak ditemukan (*not found*)

menunjukkan bahwa kedua organ tidak berdiri sendiri, saraf optik berfungsi sebagai rute penting transportasi *S. agalactiae* antara mata dan otak.

Hasil analisis performa darah menunjukkan bahwa kadar glukosa darah ikan nila yang diinjeksi bakteri NP1050 mengalami peningkatan signifikan ($P < 0,05$) pada H-7 dan H-14 pemeliharaan pascainjeksi, dibandingkan kontrol dan perlakuan, demikian juga dengan kadar hematokrit, menunjukkan perbedaan signifikan ($P < 0,05$) antar perlakuan pada H-7. Jumlah total leukosit mengalami peningkatan signifikan ($P < 0,05$) pada perlakuan pascainjeksi H-7 dan H-14. Total eritrosit pada ikan nila pascainjeksi *S. agalactiae* NP1050 dan N₁₄G berbeda signifikan ($P < 0,05$) pada perlakuan H-7 masa pemeliharaan (Tabel 2).

Status fisiologis ikan menjadi bagian komponen penting dalam menentukan status kesehatan ikan (Kum & Sekkin, 2011). Parameter hematologi merupakan indikator penting dalam penentuan status fisiologis ikan. Infeksi patogen menjadi salah satu faktor penyebab terjadinya peningkatan glukosa darah ikan nila sebagai akibat adanya pelepasan kortisol dan glikogenolisis (Evans *et al.*, 2003). Peningkatan kadar glukosa darah menjadi indikator stres pada ikan (Evans *et al.*, 2005) dan kondisi ini juga dapat dijadikan indikator tingkat imunitas ikan (Zeng *et al.*, 2017). Sumber energi penting bagi ikan berasal dari glukosa, dihasilkan dari proses glikogenolisis dan glukoneogenesis, berfungsi untuk mempertahankan

kondisi homeostatis dan respons imunitas pada ikan nila (*O. mossambicus*) (Baltzegar *et al.*, 2014).

Penurunan kadar hematokrit akan memengaruhi kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit pada ikan. Kenaikan dan penurunan kadar hematokrit dapat dijadikan indikator gejala anemia dan polisitemia pada ikan (Alsaid *et al.*, 2014). Terjadinya anemia berdampak negatif bagi ikan karena proses metabolisme terganggu (Suhermanto *et al.*, 2013; Hamed *et al.*, 2019). Hasil penelitian Laith *et al.* (2017); Suhermanto *et al.* (2018) diperoleh hasil bahwa infeksi *S. agalactiae* menyebabkan abnormalitas organ hematopoietik yaitu ginjal, limpa, dan hati ikan.

Eritrosit mengandung hemoglobin yang berperan mengikat dan mendistribusikan oksigen. Rendahnya eritrosit menyebabkan terjadinya anoxia, pengaturan suhu tubuh terganggu, serta abnormalitas pertumbuhan. Hasil penelitian ikan nila merah pascainfeksi *S. agalactiae* menunjukkan adanya penurunan yang signifikan jumlah eritrosit, persentase hematokrit, dan hemoglobin (Alsaid *et al.*, 2014), disebabkan organ yang memproduksi darah merah yaitu ginjal dan limpa, serta organ hemopoietik lainnya terganggu (Sirimanapong *et al.*, 2018).

Gabriel *et al.* (2015) menyatakan peningkatan total leukosit pascainjeksi *S. agalactiae* merupakan respons alami ikan terhadap serangan patogen, dan dapat dijadikan sebagai indikator awal adanya infeksi patogen pada ikan. Pascainfeksi bakteri, ikan

Tabel 2. Performa nilai glukosa, hematokrit, leukosit, dan eritrosit pada darah ikan nila *O. niloticus*

Table 2. Value performance of glucose, hematocrit, leukocytes, and erythrocytes of tilapia, *O. niloticus*

Parameter Parameters	Kode Code	H-0	H-7	H-14
Glukosa Glucose (mg.dL ⁻¹)	Kontrol (Control)	28 ± 2.8	39 ± 4.24 ^b	40.5 ± 7.7 ^b
	NP1050	28 ± 2.8	52.5 ± 4.95 ^a	53.5 ± 2.12 ^a
	N ₁₄ G	28 ± 2.8	47 ± 1.41 ^{ab}	45 ± 5.66 ^{ab}
Hematokrit Hematocrit (%)	Kontrol (Control)	39.59 ± 1.2	32.19 ± 0.52 ^a	21.59 ± 1.61 ^b
	NP1050	39.59 ± 1.2	21.10 ± 0.07 ^b	31.91 ± 0.46 ^a
	N ₁₄ G	39.59 ± 1.2	36.90 ± 2.63 ^a	34.69 ± 0.02 ^a
Leukosit (10 ⁵ sel.mm ⁻³) Leukocytes (10 ⁵ cell.mm ⁻³)	Kontrol (Control)	4.47 ± 0.41	3.7 ± 0.31 ^b	4.78 ± 0.14 ^b
	NP1050	4.47 ± 0.41	6.24 ± 0.75 ^a	6.51 ± 0.89 ^a
	N ₁₄ G	4.47 ± 0.41	5.39 ± 0.07 ^a	5.98 ± 0.08 ^a
Eritrosit (10 ⁵ sel.mm ⁻³) Erythrocytes (10 ⁵ cell.mm ⁻³)	Kontrol (Control)	17.4 ± 1.6	16.9 ± 1.3 ^{ab}	18.9 ± 1.6 ^a
	NP1050	17.4 ± 1.6	14 ± 4.5 ^b	18.87 ± 1.8 ^a
	N ₁₄ G	17.4 ± 1.6	21.8 ± 1.2 ^a	20.47 ± 1.8 ^a

umumnya mengalami leukositosis seperti penelitian yang dilakukan pada ikan nila merah dan ikan mas (Alsaid *et al.*, 2014; Suhermanto *et al.*, 2013).

Pola serangan *S. agalactiae* NP1050 dan N_{14G} memberikan pengaruh yang berbeda pada ikan nila terutama parameter respons imun non-spesifik. Ikan nila yang diinfeksi bakteri NP1050 mengalami peningkatan total leukosit dibandingkan dengan ikan nila yang diinfeksi bakteri N_{14G}. Leukosit merupakan komponen utama respons imun non-spesifik pada ikan melalui aktivitas pagositik yang dilakukan oleh sel-sel leukosit. Infeksi bakteri dicegah oleh sistem leukosit dan sel-sel jaringan leukosit melalui proses pagositosis dan pembentukan antibodi. Peningkatan produksi total leukosit diarahkan menuju area inflamasi dan merupakan respons dalam bentuk proteksi terhadap adanya infeksi bakteri.

Eritrosit yang merupakan parameter respons imun non-spesifik mengalami perbedaan pascauji tanggap *S. agalactiae* NP1050 dan N_{14G}. Ikan nila yang diinfeksi bakteri NP1050 mengalami penurunan yang signifikan dibandingkan infeksi bakteri N_{14G}. Bakteri NP1050 merupakan bakteri tipe β -hemolitik yang dideteksi memiliki gen virulen *cylE* (β -hemolysin *cytolysin*). Gen ini berfungsi melisis darah merah ikan sehingga menyebabkan terjadinya penurunan total eritrosit dan hematokrit, yang akan mengganggu metabolisme ikan (Suhermanto, 2019).

KESIMPULAN

Pola infeksi *S. agalactiae strain* NP1050 dan N_{14G} menunjukkan pola yang berbeda pada ikan nila. Hal ini dipengaruhi oleh keberadaan bakteri pada organ ginjal, otak, dan mata. Waktu infeksi bakteri *S. agalactiae strain* NP1050 yang lebih lama di dalam darah, akan berpengaruh terhadap gejala klinis dan perubahan profil dan komposisi sel darah ikan nila (*O. niloticus*).

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Badan Riset dan Sumber Daya Kelautan dan Perikanan, Kementerian Kelautan dan Perikanan (BRSDMKP-KKP), Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan (BRPBATPP) Bogor, Instalasi Riset Pengendalian dan Penyakit Ikan (IRP2I) Depok, dan Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BKIPM 1) Jayapura Papua.

DAFTAR ACUAN

Al Harbi, A.H. (2016). Phenotypic and genotypic characterization of *Streptococcus agalactiae* isolated from hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). *Aquaculture*, 464, 515-520.

Alsaid, M., Abuseliana, A.F., Daud, H.H., Mustapha, N.M., Bejo, S.K., Abdelhadi, Y.M., & Hamdan, R.H. (2014). Haematological, biochemical and clinical signs changes following experimental infection of *Streptococcus agalactiae* in red hybrid tilapia (*Oreochromis sp.*). *Aquacultura Indonesiana*, 15, 86-93.

Anshary, H., Kurniawan, R.A., Sriwulan, S., Ramli, R., & Baxa, D.V. (2014). Isolation and molecular identification of the etiological agents of streptococcosis in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in net cages in Lake Sentani, Papua, Indonesia. *SpringerPlus*, 3(627), 1-11.

Baltzegar, D.A., Reading, B.J., Douros, J.D., & Borski, R.J. (2014). Role for leptin in promoting glucose mobilization during acute hyperosmotic stress in teleost fishes. *Journal of Endocrinology*, 220(1), 61-72.

Caruso, D. & Pepey, E. (2018). Diagnostic of *Streptococcus agalactiae* by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) on *Oreochromis niloticus*. Seminar: Streptococcal Disease: Detection and Prevention. Depok, Indonesia, November 9, 2018.

Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya [DJPB]. (2018). Data teknis Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, Kementerian Kelautan dan Perikanan.

D'Urzo, N., Martinelli, M., Pezzicoli, A., Cesare, V.D., Pinto, V., Margarit, I., Telford, J.L., & Maione, D. (2014). Acidic pH strongly enhances in vitro biofilm formation by a subset of hypervirulent ST-17 *Streptococcus agalactiae* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(7), 2176-2185.

Delannoy, C.M.J., Crumlish, M., Fontaine, M.C., Pollock, J., Foster, G., Dagleish, M.P., Turnbull, J.F., & Zadoks, R.N. (2013). Human *Streptococcus agalactiae* strains in aquatic mammals and fish. *BMC Microbiology*, 13(1), 41.

Delannoy, C.M.J., Zadoks, R.N., Crumlish, M., Rodgers, D., Lainson, F.A., Ferguson, H.W., & Fontaine, M.C. (2014). Genomic comparison of virulent and non-virulent *Streptococcus agalactiae* in fish. *Journal of Fish Diseases*, 39(1), 13-29.

Evans, J.J., Shoemaker, C.A., & Klesius, P.H. (2003). Effects of sublethal dissolved oxygen stress on blood glucose and susceptibility to *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 15(3), 202-208.

Evans, J.J., Klesius, P.H., Shoemaker, C.A., & Fitzpatrick, B.T. (2005). *Streptococcus agalactiae* vaccination and infection stress in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of Applied Aquaculture*, 16, 105-115.

- Gabriel, N.N., Qiang, J., He, J., Ma, X.Y., Kpundeh, M.D., & Xu, P. (2015). Dietary aloe vera supplementation on growth performance, some haemato-biochemical parameters and disease resistance against *Streptococcus iniae* in tilapia (GIFT). *Fish & Shellfish Immunology*, 44, 504-514.
- Hamed, M., Soliman, H.A., Osman, A.G., & Sayed, A.E.D.H. (2019). Assessment the effect of exposure to microplastics in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) early juvenile: I. Blood biomarkers. *Chemosphere*, 228, 345-350.
- Kannika, K., Pisuttharachai, D., Srisapome, P., Wongtavatchai, J., Kondo, H., Hirono, I., Unajak, S., & Areechon, N. (2017). Molecular serotyping, virulence gene profiling and pathogenicity of *Streptococcus agalactiae* isolated from tilapia farms in Thailand by multiplex PCR. *Journal of Applied Microbiology*, 122(6), 1497-1507.
- Kayansamruaj, P., Pirarat, N., Katagiri, T., Hirono, I., & Rodkhum, C. (2014). Molecular characterization and virulence gene profiling of pathogenic *Streptococcus agalactiae* populations from tilapia (*Oreochromis* sp.) farms in Thailand. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 26(4), 488-495.
- Kum C. & Sekkin S. (2011). The immune system drugs in fish: Immune function, immunoassay, drugs. In *Recent Advances in Fish Farms*. Intech Open, p. 169-216.
- Laith, A.A., Ambak, M.A., Hassan, M., Sheriff, S.M., Nadirah, M., Draman, A.S., Wahab, W., Wan Ibrahim, W.N., Aznan, A.S., Amina Jabar, A., & Najiah, M. (2017). Molecular identification and histopathological study of natural *Streptococcus agalactiae* infection in hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Veterinary World*, 10(1), 101-111
- Lusiastuti, A.M., Textor, M., Seeger, H., Akineden, Ö., & Zschöck, M. (2014). The occurrence of *Streptococcus agalactiae* sequence tipe 261 from fish disease outbreaks of tilapia *Oreochromis niloticus* in Indonesia. *Aquaculture Research*, 45, 1260-1263.
- Pradeep, P.J., Suebsing, R., Sirthammajak, S., Kampeera, J., Jitrakorn, S., Saksmerprom, V., & Jeffs, A. (2016). Evidence of vertical transmission and tissue tropism of Streptococcosis from naturally infected red tilapia (*Oreochromis* spp.). *Aquaculture Reports*, 3, 58-66.
- Rosini, R. & Margarit, I. (2015). Biofilm formation by *Streptococcus agalactiae*: Influence of environmental conditions and implicated virulence factors. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5(6), 1-4.
- Sirimanapong, W., Thompson, K.D., Shinn, A.P., Adams, A., & Withyachumnarnkul, B. (2018). *Streptococcus agalactiae* infection kills red tilapia with chronic *Francisella noatunensis* infection more rapidly than the fish without the infection. *Fish & Shellfish Immunology*, 81, 221-232.
- Standar Nasional Indonesia 7545.3. [SNI]. (2009). Metode identifikasi bakteri pada ikan secara konvensional. Bagian 2.
- Stoskopf, M.K. (1993). Fish medicine. Sounders W.B., Philadelphia, P.A. (USA). 882 pp.
- Su, Y., Feng, J., Liu, C., Li, W., Xie, Y., & Li, A. (2017). Dynamic bacterial colonization and microscopic lesions in multiple organs of tilapia infected with low and high pathogenic *Streptococcus agalactiae* strains. *Aquaculture*, 471, 190-203.
- Suhermanto, A., Sri, A., & Maftuch. (2013). Effect of total phenol of sea cucumber (*Holothuria scabra*) on the non-specific immune response of carp (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Bumi Lestari*, 13(2), 225-233.
- Suhermanto, A., Sukenda, S., Zairin, J.M., Lusiastuti, A.M., & Nuryati, S. (2018). Toksisitas sel utuh dan extracellular product (ECP) *Streptococcus agalactiae* β-hemolitik dan non-hemolitik pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Riset Akuakultur*, 13(4), 317-328.
- Suhermanto, A., Sukenda, S., Zairin, J.M., Lusiastuti, A.M., & Nuryati, S. (2019). Characterization of *Streptococcus agalactiae* bacterium isolated from tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture in Indonesia. *AAFL Bioflux*, 12(3), 756-766.
- Suhermanto, A. (2019). *Vaksin polivalen S. agalactiae untuk pencegahan penyakit streptococcosis pada ikan nila*. Disertasi. Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Taukhid. (2018). Current status of streptococcosis (tilapia) in Indonesia. In Workshop *Streptococcus agalactiae* bacteria detection assisted by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). Depok, November 9. Fish Health Laboratory.
- Wedemeyer, G.A. & Yasutake, W.T. (1977). Clinical methods for the assessment of the effect on environmental stress on fish health. *Technical Papers of the U.S. Fish and Wildlife Service*. US Department of the Interior. *United States Fish and Wildlife Service*, 89, 1-17.
- Zeng, Z.H., Du, C.C., Liu, S.R., Li, H., Peng, X.X., & Peng, B. (2017). Glucose enhances tilapia against *Edwardsiella tarda* infection through metabolome reprogramming. *Fish & Shellfish Immunology*, 61, 34-43.