

---

**VAKSINASI IKAN SEBAGAI UPAYA PENINGKATAN KEKEBALAN TUBUH PADA IKAN****Oleh****Lukman Anugrah Agung****Program Studi Ilmu Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa****E-mail: [lukman.anugrah@untirta.ac.id](mailto:lukman.anugrah@untirta.ac.id)****Abstrak**

Saat ini banyak terjadi wabah penyakit pada ikan yang dapat menyebabkan kematian ikan sehingga menurunkan keuntungan budidaya ikan. Vaksin dapat digunakan untuk meningkatkan sistem imun ikan sehingga dapat digunakan sebagai salah satu alternatif dalam menjaga kesehatan ikan. Beberapa jenis vaksin telah diaplikasikan pada budidaya perikanan dan terbukti efektif dapat mengendalikan penyakit pada ikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis-jenis vaksin yang efektif dapat meningkatkan sistem imun spesifik pada ikan untuk pencegahan penyakit pada ikan sehingga dapat meningkatkan produktivitas dan keuntungan budidaya ikan. Metode yang digunakan pada artikel ini adalah literature review yaitu dengan mengumpulkan artikel penelitian yang terdapat di google scholar dengan menggunakan kata kunci vaksin pada ikan. Berdasarkan hasil dari literature review ini diketahui beberapa jenis vaksin mampu meningkatkan sistem imun tubuh sehingga meningkatkan kekebalan tubuh ikan terhadap penyakit.

**Kata Kunci: Vaksin, Jenis Vaksin, Aplikasi Vaksin****PENDAHULUAN**

Sebagai negara kepulauan terbesar dengan luas wilayah laut sebesar 5,8 juta km<sup>2</sup>, Indonesia memiliki potensi budidaya perikanan laut (*marine culture*) yang sangat besar. Disamping itu, melimpahnya sumberdaya air di berbagai wilayah daratan Indonesia merupakan peluang yang sangat besar untuk pengembangan budidaya perikanan berbasis daratan (*land culture*). Potensi lahan perikanan budidaya secara nasional diperkirakan sebesar 17,74 juta Ha, yang terdiri atas lahan budidaya air tawar sebesar 2,23 juta Ha, budidaya air payau 2,96 juta Ha dan budidaya laut senilai 12,55 juta Ha. Sedangkan pemanfaatannya hingga saat ini masing-masing baru mencapai 16,62 % untuk budidaya air tawar, 50,06 % untuk budidaya air payau dan 2,09 % untuk budidaya laut (Pusdatin KKP, 2013).

Upaya untuk meningkatkan produksi ikan telah dilakukan melalui intensifikasi budidaya perikanan. Namun, adanya penyakit yang disebabkan mikrobia patogen menjadi hal yang dapat berakibat fatal di bidang akuakultur

diantaranya yaitu kematian massal ikan sehingga mengakibatkan kerugian. Selain itu, upaya pengendalian penyakit ikan yang kurang tepat dengan pemakaian bahan kimia dan antibiotik dapat menimbulkan dampak negatif bukan saja terhadap lingkungan perairan dan patogen-patogen yang menjadi resisten, namun terhadap kesehatan konsumen berupa adanya residu antibiotik (Mangunwardoyo *et al.* 2010).

Untuk menghindari hal itu, pengembangan ketahanan tubuh ikan perlu dilakukan dengan imunostimulasi (imunisasi-vaksinasi). Vaksinasi merupakan suatu upaya untuk meningkatkan ketahanan tubuh yang bersifat spesifik melalui pemberian vaksin. Pemberian vaksin pada budidaya perikanan telah banyak dilakukan dan memberikan hasil yang optimal dalam melindungi ikan terhadap berbagai agen penyakit diantaranya yaitu parasit, jamur, virus, dan bakteri. Oleh karena itu diperlukan upaya pengembangan vaksin untuk meningkatkan imunitas ikan terhadap serangan penyakit sehingga dapat meningkatkan produksi budidaya perikanan

sebagai sumber protein hewani untuk masyarakat (Mulia *et al.* 2006).

## METODE PENELITIAN

Dalam review artikel ini digunakan artikel yang tersedia secara online di google scholar dengan kata kunci vaksin pada ikan. Fokus utama dari studi review artikel ini adalah jenis-jenis vaksin serta aplikasi vaksin yang potensial dapat meningkatkan sistem imun ikan. Artikel yang digunakan adalah artikel dengan kriteria sebagai berikut 1) Menggunakan Bahasa Indonesia atau Bahasa Inggris Fulltext, 2) Merupakan penelitian eksperimental atau deskriptif yang meneliti tentang jenis vaksin serta aplikasi vaksin pada ikan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Sistem Imun Sebagai Dasar Vaksinasi Pada Ikan

Sistem imun berfungsi untuk melindungi ikan dari bakteri, virus, atau antigen asing (protein). Oleh karena itu, sebelum dilakukan vaksinasi penting untuk menentukan kapan sistem kekebalan sudah matang secara morfologis dan fungsional. Imunologi ikan memiliki sejarah yang lebih baru daripada imunologi manusia dan hewan tetapi teknologi dan metode aplikasi yang digunakan serupa. Metode pemberian vaksin untuk ikan bergantung pada spesies ikan, patogen yang menginfeksi, suhu dan lingkungan (Amend, 1981).

Sistem imun non-spesifik merupakan sistem imun yang tidak memerlukan paparan sebelumnya terhadap agen penyakit tertentu. Sistem imun non-spesifik pada ikan meliputi penghalang fisik seperti kulit dan lapisan lendir, sel khusus seperti makrofag dan sel NK serta molekul terlarut tertentu seperti komplemen dan interferon (Baxter, 2007). Garis pertahanan pertama ikan untuk melawan agen asing adalah lendir dan kulit, yang mengandung molekul imun-reaktif (yaitu, lisozim, komplemen dan imunoglobulin). Antibodi tidak diproduksi dalam serum melainkan diproduksi secara lokal

oleh jaringan limfoid yang tergabung dengan mukosa jaringan epitelial (*Mucosal Associated Lymphoid Tissue*) yang terdapat pada pada usus, kulit dan insang ikan. Sel imun non-spesifik dari sistem kekebalan ikan termasuk monosit atau makrofag jaringan, granulosit (neutrofil) dan sel sitotoksik, serta komplemen. Duplikasi dan diversifikasi komponen pada komplemen merupakan ciri mencolok dari sistem komplemen ikan. Studi terbaru juga telah mengkonfirmasi adanya homolog fungsional dari sitokin mamalia pada ikan (Sebastian *et al.* 2012).

Sistem imun spesifik berperan penting dalam keberhasilan proses vaksinasi pada ikan. Sistem imun spesifik dimediasi oleh limfosit sel-T dan sel-B yang memberikan perlindungan terhadap penyakit ikan setelah pemberian vaksin. Ikan (Pisces) dibagi menjadi tiga kelas yaitu Agnatha (ikan tanpa rahang seperti hagfish dan lamprey), Chondrichthyes (ikan bertulang rawan seperti hiu, pari dan skate) dan Osteichthyes (ikan bertulang). Ikan di atas level Agnatha menunjukkan respons imun spesifik seperti pada vertebrata yang dicirikan oleh adanya imunoglobulin, reseptor sel-T, sitokin, dan molekul MHC (Major Histocompatibility Complex). Namun, sistem kekebalan ikan sangat berbeda dalam efisiensi dan kompleksitasnya dari vertebrata yang lebih tinggi. Sistem imun spesifik (bawaan) pada ikan mencakup respons humoral dan respons seluler. Respons imun yang dimediasi oleh sel pada ikan mirip dengan mamalia dan bergantung pada keberadaan antigen, yang kemudian menghasilkan serangkaian peristiwa yang mencakup produksi sitokin dengan fungsi mengatur atau meningkatkan respons seluler (Levraud dan Baundinot, 2009)

Sebagian besar organ limfoid generatif dan sekunder pada mamalia juga ditemukan pada ikan kecuali nodul limfatik dan sumsum tulang. Ginjal merupakan bagian anterior ikan teleost yang identik dengan MHC pada mamalia dan merupakan tempat dihasilkannya sel-T dan Sel- B yang semula dikembangkan di dalam

timus. Pada ikan teleost, limfosit sel-T bermigrasi dari ginjal ke timus untuk pematangan sehingga sel-T tersebut dapat mengenali sel tubuh (self cell) dan antigen (non self cell). Limfosit-B berasal dan matang di dalam ginjal, sehingga daerah anterior ginjal ikan identik dengan sumsum tulang belakang pada mamalia. Sel-B pada ikan merupakan sel imun yang sangat penting pada ikan karena akan memproduksi antibodi apabila ikan terserang penyakit.

Respon sel T terhadap invasi antigen (termasuk antigen vaksin) terjadi setelah diproses dan dipresentasikan oleh Antigen Presenting Cell (APC). Hal ini terjadi karena sel T hanya dapat mengenali antigen yang terikat pada protein Major Histocompatibility Complex (MHC). Terdapat 2 kelas MHC, yang masing-masing dapat dikenali oleh 1 dari 2 subtype sel T yaitu MHC kelas I dan MHC kelas II. MHC kelas I diekspresikan oleh seluruh sel somatik, untuk mempresentasikan antigen pada sel T sitotoksik (Cytotoxic T Lymphocytes, CTL) dengan petanda permukaan CD8 yang dapat menyebabkan kematian sel terinfeksi atau patogen. Sedangkan MHC kelas II diekspresikan oleh makrofag dan beberapa sel lain untuk mempresentasikan antigen pada sel T helper (Th) dengan petanda permukaan CD4. Pengenalan dan presentasi antigen yang efisien diperlukan untuk vaksinasi yang efektif. Antigen vaksin biasanya disajikan melalui molekul MHC-II ke sel T, sedangkan vaksinasi DNA dimediasi melalui jalur MHC I, meskipun perlu dicatat bahwa kedua tanggapan dapat dipicu secara bersamaan sehingga dapat menghasilkan respons imun yang optimal. Keberhasilan vaksin memacu respons imun juga sangat terkait dengan adjuvant yang dipilih. Aplikasi penanda (marker) untuk menguji efektivitas respons imun setelah pemberian vaksin yang diperantarai sel T masih menjadi tantangan meskipun banyak studi tentang ekspresi sitokin (Bowser, 1999).

## Jenis Vaksin

### 1) Vaksin yang dimatikan

Dalam budidaya perikanan, sebagian besar jenis vaksin adalah vaksin yang dimatikan. Vaksin yang dimatikan merupakan vaksin yang dibuat dari mikroba penyebab penyakit yang telah melalui beberapa proses inaktivasi sehingga kehilangan kemampuannya untuk menginfeksi atau bereplikasi di dalam atau di luar tubuh ikan. Penggunaan pertama yang dilaporkan dari vaksin ini adalah vaksin *Aeromonas salmonicida* yang dimatikan oleh Duff, yang menyelidiki vaksinasi oral ikan trout *Oncorhynchus clarkii*. Inaktivasi dapat dilakukan melalui proses fisik, kimia, atau radiasi tanpa menghilangkan sifat imunogenesitasnya. Vaksin ini lebih stabil dan lebih murah untuk diproduksi (Gudding *et al.* 2014). Vaksin ini bersifat aman karena kurang dapat bertahan pada lingkungan dan ikan yang divaksinasi. Namun, vaksin ini menghasilkan imunitas ikan yang lebih lemah atau berumur pendek jika dibandingkan dengan jenis vaksin lain (Baxter, 2007). Oleh karena itu, diperlukan penggunaan adjuvant dan pemberian vaksin booster (vaksin berulang) untuk dapat menginduksi kekebalan ikan secara maksimal. Setelah diberikan, Antigen Presenting Cell (APCs) fagositik memulai proses menghilangkan sel-sel kekebalan yang diaktifkan dan memunculkan respons imun humoral dengan pembentukan sel memori. Vaksin ini memiliki kelemahan diantaranya yaitu potensi immunosupresif, reaksi toksik yang disebabkan oleh adjuvan, penurunan imunogenesitas karena denaturasi protein, dan reaksi sistemik terhadap bahan pembuatan adjuvan sehingga diperlukan pengembangan untuk meningkatkan tingkat proteksi vaksin terhadap penyakit.

### 2) Vaksin yang dilemahkan

Vaksin hidup yang dibuat dari satu atau lebih virus atau bakteri yang telah dilemahkan atau telah lemah secara alami sehingga menunjukkan virulensi yang rendah terhadap spesies ikan target. Mikroorganisme patogen

dapat dilemahkan menggunakan proses fisik atau kimia, kultur dalam kondisi abnormal, atau manipulasi genetik. Vaksin hidup cenderung lebih imunogenik daripada sediaan mati karena memiliki kemampuan untuk berkembang biak atau memasuki inang sehingga dapat merangsang respons imun seluler, baik imunitas bawaan atau adaptif (Desmettre *et al.* 1997). Respons imun yang diperantarai vaksin tersebut bekerja mirip dengan infeksi patogen alami yang pada akhirnya menghasilkan respons antibodi yang kuat. Selanjutnya, akan terbentuk sel memori menghasilkan kekebalan yang lebih tahan lama. Penggunaan adjuvan pada vaksin hidup tidak diperlukan karena vaksin ini memiliki efektivitas imunogenik yang tinggi. Dalam istilah aplikasi komersial untuk akuakultur, vaksin hidup memiliki potensi yang lebih besar untuk diberikan melalui oral atau rute perendaman. Jadi, cara aplikasi lebih dinamis dari pada vaksin yang tidak aktif yang harus menggunakan bahan pembantu (Tlaxca *et al.* 2015). Vaksin hidup yang dilemahkan telah terbukti aman dalam berbagai keadaan, walaupun ada potensi risiko yang harus diatasi untuk memastikan produk tersebut tidak kembali virulen. Dua vaksin bakteri hidup berlisensi di Amerika Serikat dikembangkan dengan prosedur pelemahan menggunakan serial pasase dengan adanya peningkatan konsentrasi antibiotik rifampisin (Shoemaker *et al.* 2007). Strategi ini merupakan salah satu strategi mutagenesis kimia yang paling sukses untuk bakteri gram-negatif.

Jenis vaksin ini diantaranya yaitu vaksin subunit dan vaksin toksoid. Vaksin subunit merupakan vaksin yang berasal dari bagian tubuh organisme. Misalnya komponen kapsul bakteri (*Streptococcus pneumoniae*) sedangkan vaksin toksoid dibuat dari bahan toksin bakteri tidak toksik namun dapat merangsang terbentuknya antibodi. Contohnya: Vaksin toksoid dari extra cellular *Streptococcus agalactiae*.

### 3) Vaksin Rekombinan

Susunan vaksin ini memerlukan epitope organisme yang patogen. Sintesis dari antigen vaksin tersebut melalui isolasi dan penentuan gen epitop bagi sel penerima vaksin. Prinsip vaksin ini adalah dengan menyisipkan satu atau lebih gen yang mengkode determinan imunitas yang penting pada mikroorganisme. Vektor yang biasa digunakan adalah virus (poxvirus vaccinia, canarypox, adenovirus) dan bakteri (*salmonella*).

### 4) Vaksin Asam Nukleat

Beberapa vaksin asam nukleat telah dikembangkan untuk digunakan dalam akuakultur selama 20 tahun terakhir (Ulmer dan Geal, 2016). Telah dikemukakan bahwa vaksin ini memiliki sifat positif yang setara dengan vaksin yang dilemahkan dan vaksin subunit. Vaksin asam nukleat terdiri dari DNA atau RNA yang mengkodekan antigen yang diinginkan dan dianggap relatif mudah dibuat dan aman untuk diberikan karena antigen tidak dapat kembali ke keadaan patogen. Vaksin asam nukleat berbasis nukleotida sehingga memiliki keunggulan dibandingkan vaksin lainnya yang mencakup fleksibilitas produksi skala besar dengan biaya kompetitif, serta tidak diperlukan kebutuhan penyimpanan dingin. Vaksin berbasis RNA yang lebih baru menawarkan semua keuntungan dari pendekatan berbasis nukleotida, termasuk imunogenisitas yang ditingkatkan sehingga meningkatkan keberhasilan vaksinasi. Jenis vaksin asam nukleat diantaranya yaitu vaksin DNA dan vaksin RNA. Vaksin DNA terdiri dari ekspresi plasmid yang membawa gen spesifik yang mengkode protein antigenik dapat menimbulkan respons imun yang kuat apabila diekspresikan dalam gen inang. Produksi plasmid ditingkatkan dalam sel bakteri dan gen yang diinginkan diapit oleh promotor dan elemen penghentian yang memfasilitasi ekspresi dalam sel eukariotik (Kurath, 2008). Vaksin DNA dapat mengaktifkan kekebalan seluler dan humoral dengan kuat. Perkembangan vaksin DNA dapat berlangsung

lebih cepat jika antigen pelindung diketahui. Vaksin DNA seringkali lebih efektif terhadap infeksi virus, dan sangat efisien terhadap rhabdovirus pada ikan, karena vaksin DNA menggunakan mekanisme seluler yang sama dengan yang digunakan virus begitu mereka memasuki sel inang (Holvold *et al.* 2014). Selain itu, vaksin DNA biasanya dibangun untuk menjadi multivalen, dan memberikan proteksi monovalen dan proteksi silang dengan menggunakan pengkodean gen untuk beberapa antigen dalam desain plasmid. Vaksin DNA dianggap lebih aman daripada vaksin hidup yang dilemahkan karena mereka hanya mengekspresikan segmen protein antigenik dan bukan seluruh organisme, meskipun interaksi antigen dalam inang tidak dipahami dengan baik. Karena antigen diproduksi di dalam organisme melalui ekspresi genetik dari sel inang, durasi respon imun vaksin DNA dalam banyak kasus memiliki efek proteksi yang tahan lama.

Saat ini, ada dua vaksin berbasis RNA utama, yang dibedakan berdasarkan kapasitas translasi dari RNA yaitu vaksin konvensional, mRNA non-penguatan dan mRNA self-amplifying. Vaksin berbasis RNA berkembang pesat dan dibuktikan menghasilkan hasil yang baik pada manusia dan hewan. Menggunakan RNA dalam vaksin memiliki sejumlah keuntungan yaitu aman karena RNA tidak menular dan terdegradasi oleh proses seluler normal, dan tidak ada potensi resiko infeksi atau mutagenesis. Lebih lanjut, RNA adalah stimulator yang ampuh untuk kekebalan ikan. Kemajuan terbaru dalam teknologi vaksin RNA telah ditinjau secara ekstensif beberapa publikasi dan dengan demikian, keberhasilan dan dampaknya dapat diaplikasikan untuk pengembangan akuakultur. Vaksin RNA yang paling banyak digunakan saat ini didasarkan pada genom alphavirus yang termasuk dalam famili *Togaviridae* (Perri *et al.* 2007).

#### **Metode Pemberian vaksin pada ikan**

Vaksinasi oral dengan antigen yang diberikan dalam pakan akan menjadi metode

vaksinasi yang ideal. Namun, respon yang buruk dan tidak konsisten telah dilaporkan pada pemberian vaksin oral konvensional karena kerusakan antigen di usus (Holvold *et al.* 2014). Pendekatan yang berbeda untuk melindungi antigen dari degradasi, seperti terperangkap dalam liposom, netralisasi sekresi lambung atau aplikasi vaksin biofilm (Baxter, 2007), telah menunjukkan beberapa hasil yang baik. Namun, sejumlah besar antigen biasanya diperlukan dan perlindungan yang dicapai umumnya lemah dengan durasi yang singkat. Oleh karena itu, dua metode utama pemberian vaksin kepada ikan yaitu perendaman singkat dalam suspensi vaksin yang diencerkan atau disuntikkan ke dalam rongga tubuh (biasanya dengan injeksi intraperitoneal) lebih sering diaplikasikan daripada pemberian secara oral. Vaksin perendaman efektif untuk sejumlah bakteri patogen dan murah serta mudah diberikan pada ikan kecil. Di lain pihak, vaksinasi ikan melalui suntikan membutuhkan ikan untuk ukuran tertentu, membuat vaksinasi pada benih lebih sulit. Namun demikian, banyak vaksin ikan saat ini merupakan vaksin injeksi multikomponen, karena paling tidak salah satu komponennya memerlukan injeksi dan bahan pembantu lemak agar efektif. Kemajuan vaksin injeksi adalah volume vaksin yang dibutuhkan relatif rendah dan setiap ikan divaksinasi dengan dosis yang tepat.

Ikan merupakan hewan berdarah dingin dengan suhu tubuh yang setara lingkungan. Tergantung pada spesies ikan dan suhu, vaksinasi harus dilakukan dalam jangka waktu minimum tertentu sebelum risiko terpapar patogen. Sebagai tambahan suhu, stres yang disebabkan oleh lingkungan, kepadatan, penanganan dan transportasi, dapat menyebabkan penekanan kekebalan dan menjadi faktor pembatas khasiat vaksin. Ikan biasanya diimunisasi tiga kali dengan beberapa prosedur diantaranya yaitu Prosedur: injeksi intraperitoneal (IP), perendaman dalam larutan air larutan vaksin, atau pemberian oral vaksin (Komar *et al.* 2004). Meskipun metode ini

memiliki kelebihan dan kerugian sehubungan dengan tingkat perlindungan, efek samping, kepraktisan dan efisiensi biaya, hanya injeksi dan preendam yang diterima secara luas karena memberikan perlindungan yang cukup untuk digunakan sebagai jalur utama imunisasi ikan dalam produksi komersial (Evensen, 2009). Untuk vaksinasi oral, penelitian difokuskan pada perlindungan antigen dari pencernaan dan dekomposisi selama perjalanan dalam perut dan bagian anterior usus. Namun, hasil yang baik telah diperoleh dengan menggunakan enkapsulasi antigen di alginat atau partikel mikro asam glikolat polylactic. Dari segi ekonomi vaksinasi oral adalah cara yang ideal untuk digunakan di program vaksinasi yang membutuhkan satu atau lebih penguat imunisasi untuk meningkatkan efektivitas vaksin (Lee *et al.* 2012).

### **Pengembangan Vaksin Pada Ikan**

#### 1) Vaksin bakteri

Vaksinasi memainkan peran penting dalam budidaya ikan komersial skala besar dan telah menjadi alasan utama keberhasilan budidaya salmon. Selain salmon dan trout, vaksin komersial juga tersedia untuk channel catfish, eropa seabass dan seabream, jepang amberjack and yellow tail, tilapia and Atlantic cod (Rodger 2016).

#### 2) Vaksin virus

Terlepas dari banyaknya penelitian yang dilakukan, baik secara komersial perusahaan dan organisasi akademis, hanya sedikit vaksin virus berlisensi. Saat ini, sebagian besar vaksin virus ikan yang dijual yaitu vaksin protein rekombinan serta vaksin asam nukleat (Rodger 2016). Dalam vaksin virus yang dimatikan umumnya kurang berkhasiat kecuali jika diberikan melalui suntikan dan relatif tinggi dosis diperlukan untuk mencapai perlindungan.

#### 3) Vaksin Parasit

Ada berbagai macam parasit baik pada ikan liar maupun budidaya. Meski penyakit parasit seperti penyakit bercak putih, penyakit berputar, penyakit ginjal proliferasi (PKD) dan Infestasi kutu salmon menciptakan beberapa masalah

dalam budidaya ikan, vaksin parasit belum tersedia secara komersial. Secara umum ikan memiliki mekanisme pertahanan humoral dan yang dimediasi sel melawan parasit (Woo *et al.* 2020).

## **PENUTUP**

### **Kesimpulan**

Vaksinasi pada ikan efektif mencegah penyakit pada ikan yang disebabkan oleh bakteri, virus, parasit dan jamur. Vaksin DNA dan Vaksin RNA merupakan vaksin yang paling efektif melindungi ikan dari penyakit virus karena hanya menggunakan bagian kecil dari protein antigenik sehingga efektif meningkatkan respons imun ikan.

### **Saran**

Perlu dilakukan pengembangan vaksin virus multivalent sehingga memiliki kemampuan proteksi terhadap virus yang lebih banyak dalam satu jenis vaksin.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- [1] Baxter, D. 2007. Active and passive immunity, vaccine types, excipients and licensing. *Occup. Med.* 57, 552–556.
- [2] Bowser PR. 1999. Diseases of fish. Cornell University, Ithaca, New York, pp: 18-25.
- [3] D.F. Amend. 1981. Potency testing of fish vaccines, *Dev. Biol. Stand.* 49 447–465.
- [4] Desmettre P, Martinod S (1997) Research and development. In: Pastoret PP, Blancou J, Vannier P, Verschueren C (eds) *Veterinary Vaccinology*. Elsevier Press, Amsterdam, The Netherlands, pp 175–194
- [5] Evensen O (2009). Development in Fish Vaccinology with Focus on Delivery Methodologies, Adjuvants and Formulations. *CIHEAM* 86: 177-186.
- [6] Gudding, R.; Goodrich, T. The History of fish vaccination. In *Fish Vaccination*, 1st ed.; Gudding, R., Lillehaug, A., Evensen, Ø., Eds.; John. Wiley & Sons, Inc.: New York, NY, USA, 2014; pp. 1–11.
- [7] H.D. Rodger. 2016. Fish disease causing economic impact in global aquaculture,

- in: A. Adams (Ed.), *Fish Vaccines Advances in Infectious Diseases*, Birkhäuser, Springer Basel, pp. 1–34.
- [8] Hølvold, L.B.; Myhr, A.I.; Dalmo, R.A. 2014. Strategies and hurdles using DNA vaccines to fish. *Vet. Res.* 45, 21.
- [9] Komar C, Enright WJ, Grisez L, Tan Z (2004) *Understanding Fish Vaccination*. Reprinted from *Aquaculture Asia Specific Magazine*, Intervet, Norbio Singapore pte, Iperahuroad, Singapore, pp: 27-29.
- [10] Kurath, G. 2008. Biotechnology and DNA vaccines for aquatic animals. *Rev. Sci. Tech. O. Int. Des. Epizoot.*, 27, 175–196.
- [11] Lee NH, Lee JA, Park SY, Song CS, Choi IS, et al. (2012) A reviews of vaccine development and research for industry animals in Korea. *Clin Exp Vaccine Res* 1: 18–34.
- [12] Mangunwardoyo, W., Ismayasari, R. & Riani, E. (2010). Uji Patogenisitas dan virulensi *Aeromonas hydrophila* Stanier pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) Melalui Postualt Koch. *J. Ris. Akuakultur* 5(2) : 245-255.
- [13] Mulia, D.S., Pratiwi, R., & Triyanto. (2006). Pengaruh cara booster terhadap efikasi vaksinasi oral dengan debris sel *Aeromonas hydrophila* pada lele dumbo (*Clarias sp.*). *Jurnal Perikanan UGM (GMU J. Fish. Sci)*, 8(1), 96-104.
- [14] Perri, S.; Greer, C.E.; Thudium, K.; Doe, B.; Legg, H.; Liu, H.; Romero, R.E.; Tang, Z.; Bin, Q.; Dubensky, T.W. 2003. An alphavirus replicon particle chimera derived from Venezuelan equine encephalitis and sindbis viruses is a potent gene-based vaccine delivery vector. *J. Virol.* 77, 10394–10403.
- [15] Pusdatin [KKP]. 2013. *Kelautan dan Perikanan dalam Angka 2013*. Jakarta (ID): Pusat Data, Statistik dan Informasi, Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- [16] Sebastián RC, Kevin M, Felipe RL, Daniela TA, Ana MS. 2012. *Fish Cytokines and Immune Response*. Veterinary Medicine and Science.
- [17] Shoemaker, C.A.; Klesius, P.H.; Evans, J.J. 2007. Immunization of eyed channel catfish, *Ictalurus punctatus*, eggs with monovalent *Flavobacterium columnare* vaccine and bivalent *F. columnare* and *Edwardsiella ictaluri* vaccine *Vaccine*, 25, 1126–1131.
- [18] Tlaxca, J.L.; Ellis, S.; Remmele, R.L., Jr. 2015. Live attenuated and inactivated viral vaccine formulation and nasal delivery: Potential and challenges. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 93, 56–78.
- [19] Ulmer, J.B.; Geall, A.J. 2016. Recent innovations in mRNA vaccines. *Curr. Opin. Immunol.* 41, 18–22.
- [20] Woo, Burno DW, Lim L (2002) *Diseases and Disorders of Fin Fish in Cage culture*. CABI publishing, walling ford, Oxon Ox 108DE, UK.

HALAMAN INI SENGAJA DIKOSONGKAN