

# IMUNOLOGI IKAN

## UU No 28 tahun 2014 tentang Hak Cipta

### **Fungsi dan sifat hak cipta Pasal 4**

Hak Cipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3 huruf a merupakan hak eksklusif yang terdiri atas hak moral dan hak ekonomi.

### **Pembatasan Pelindungan Pasal 26**

Ketentuan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 23, Pasal 24, dan Pasal 25 tidak berlaku terhadap:

- i. penggunaan kutipan singkat Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait untuk pelaporan peristiwa aktual yang ditujukan hanya untuk keperluan penyediaan informasi aktual;
- ii. Penggandaan Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait hanya untuk kepentingan penelitian ilmu pengetahuan;
- iii. Penggandaan Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait hanya untuk keperluan pengajaran, kecuali pertunjukan dan Fonogram yang telah dilakukan Pengumuman sebagai bahan ajar; dan
- iv. penggunaan untuk kepentingan pendidikan dan pengembangan ilmu pengetahuan yang memungkinkan suatu Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait dapat digunakan tanpa izin Pelaku Pertunjukan, Produser Fonogram, atau Lembaga Penyiaran.

### **Sanksi Pelanggaran Pasal 113**

1. Setiap Orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp100.000.000 (seratus juta rupiah).
2. Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).

# IMUNOLOGI IKAN

Asmi Citra Malina, S.Pi., M.Agr., Ph.D.

Andi N Renita Relatami, S.Pi., M.Si

Ifhan Dwinhoven, S.Pi., M.Biotech.



# IMUNOLOGI IKAN

Oleh

Asmi Citra Malina, S.Pi., M.Agr., Ph.D.

Andi N Renita Relatami, S.Pi., M.Si

Ifhan Dwinhoven, S.Pi., M.Biotech.

Editor :

Dr. Rahmi, S.Pi.,M.Si

Drh Rini Amriani., M.Biomed

Drh. Zulfikiri Mustakdir., M.Si

Dr. Drh Dwi Kesuma Sari, APVet

Desain Isi dan Cover : Zaenal Arifin

Ukuran : vii + 136 hal, 14.5 x 21 cm

Cetakan Pertama : 2023

Penerbit :

Pas Media

Jl. Lowanu, Gg CempakaNo 27 Yogyakarta

Hp. 081578877405

ISBN : 978-623-8849-2-5

## **KATA PENGANTAR / UCAPAN TERIMAKASIH**

Puji dan syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan dengan baik penyusunan buku yang berjudul “Imunologi Ikan”.

Buku Imunologi Ikan ini mengulas tentang aspek umum imunitas, tingkatan dan sistem imunitas pada ikan dan krustase, mekanisme, faktor yang mempengaruhi, segi praktis dari pengetahuan tentang imunitas, termasuk imunostimulasi dan vaksinasi.

Buku ini diharapkan dapat menjadi media pembelajaran dan bahan referensi tentang imunologi ikan yang sangat penting diketahui dalam rangka pencegahan penyakit pada hewan kultivan dalam kegiatan budidaya perikanan.

Terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian buku ini. Meskipun buku ini telah disusun dengan semaksimal mungkin namun kami menyadari bahwa tidak ada sesuatu yang sempurna.

Oleh karena itu, kritik dan saran kami harapkan dari semua pihak untuk membantu penulis dalam melakukan penyempurnaan buku ke depannya.

Akhir kata kami berharap semoga buku ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca, baik dari kalangan pelajar, mahasiswa, dosen, peneliti, maupun semua pihak yang berminat untuk mengetahui tentang pencegahan penyakit pada kegiatan budidaya perikanan.

Makassar, 9 April 2023

**Penyusun**

PENULIS

## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR / UCAPAN TERIMAKASIH .....	v
DAFTAR ISI .....	viii
SISTEM KEKEBALAN TUBUH .....	1
SEL & JARINGAN PADA SISTEM KETAHANAN TUBUH IKAN ...	15
SISTEM PERTAHANAN TUBUH NON SPESIFIK:.....	32
SISTEM PERTAHANAN TUBUH SPESIFIK: .....	54
A.    PERTAHANAN TUBUH SELULER .....	54
B.    PERTAHANAN TUBUH HUMORAL.....	57
FAKTOR-FAKTOR LINGKUNGAN TERHADAP KESEHATAN IKAN: ASPEK IMUNOLOGIS .....	92
IMMUNOMODULATION: FAKTOR ENDOGENEUS .....	100
IMUNISASI IKAN.....	112



## **SISTEM KEKEBALAN TUBUH**

Sistem kekebalan tubuh atau yang kita kenal sebagai sistem imun merupakan suatu sistem yang terdiri dari struktur biologis beserta proses yang menyertainya yang berperan dalam menghalau segala jenis “benda asing” atau antigen yang bersifat membahayakan dan masuk ke dalam tubuh. Sistem kekebalan tubuh ini bekerja dengan cara mendeteksi berbagai agen infeksi dan melindungi tubuh terhadap penyakit serta sebagai pendeteksi adanya sel-sel abnormal, termutasi atau ganas serta berperan dalam menghancurkannya. Sistem imun pada organisme akuatik memiliki peran yang sangat penting mengingat habitat organisme akuatik khususnya yang hidup di alam bebas seperti ikan, krustasea dan moluska tidak akan bisa terlepas dari keberadaan patogen penyebab penyakit dan stressor lingkungan yang sangat mempengaruhi kelangsungan hidupnya. Kelompok Teleostei seperti ikan yang hidup di perairan memiliki berbagai mekanisme pertahanan tubuh baik sistem kekebalan tubuh yang sederhana (misalnya lendir dan sisik yang terdapat pada permukaan tubuh ikan) atau sistem kekebalan tubuh yang lebih kompleks seperti

leukosit (sel darah putih). Sistem kekebalan tubuh ini tersusun atas berbagai mekanisme pertahanan berlapis yang bekerja dengan meningkatkan spesifisitas terhadap infeksi.

Pada ikan Sistem kekebalan tubuh terdiri dari atas Sistem pertahanan innate atau sistem pertahanan bawaan /alami yang bereaksi pada semua bahan yang asing bagi tubuh seperti kolonisasi dan infeksi oleh organisme patogen. Sistem pertahanan ini juga disebut sistem pertahanan non spesifik . sedangkan Sistem pertahanan dapatan atau yang diinduksi (Acruired) yaitu sistem pertahanan yang akan berfungsi dengan baik harus diinduksi antara lain dengan pemaparan pada patogen atau produk-produk yang berasal dari patogen (misalnya : LPS dan vaksin). Sistem pertahanan ini juga disebut pertahanan spesifik yang hanya bereaksi pada antigen tertentu.

Ikan telah diketahui lebih mengandalkan mekanisme sistem kekebalan non-spesifiknya /alamiah /bawaan (innate immune system) dari pada sistem kekebalan spesifiknya. Pertahanan non-spesifik merupakan sistem pertahanan tubuh yang sangat penting pada sistem kekebalan tubuh ikan. Pada ikan, respon imun baru terbentuk secara sempurna manakala ikan telah dewasa. Ikan-ikan muda tidak mempunyai respon

imun spesifik yang sempurna dan bergantung pada respon selular non-spesifik untuk bertahan dari serangan infeksi mikroba. Pertahanan non- spesifik merupakan pertahanan utama pada ikan stadia benih dan ikan muda (Vadstein, 1997).

Sebagian besar sistem pertahanan tubuh pada ikan berupa protein seperti antibodi, Mayor Histocompatibility Complex (MHC), protein reseptor baik sel B atau sel T dan lain- lainnya. Protein-protein dalam komponen sistem pertahanan tubuh ikan dikode dengan suatu gen yang terletak pada DNA inti atau DNA kromosomal. Gen-gen tersebut akan diaktifkan ketika sel mendapatkan rangsangan berupa infeksi mikroorganisme, untuk disintesis menjadi mRNA yang mengkode protein-protein yang berhubungan dengan sistem pertahanan tubuh. Kemudian protein- protein tersebut akan bekerja sesuai dengan perannya masing-masing untuk mendegradasi antigen yang masuk. Ketika antigen telah didegradasi oleh protein sistem pertahanan tubuh tadi, gen-gen tersebut akan dinonaktifkan sehingga sintesis mRNA yang mengkode protein dihentikan.

Udang, sama dengan invertebrate lainnya tidak mempunyai antibodi oleh karena itu pertahanannya tertumpu

pada sistem kekebalan alami, yang kemampuannya hanya mengenali benda-benda asing dan meresponnya dengan melawan dan merusak mikroorganisma penyerang.

## I. Kolonisasi dan masuk ke dalam tubuh inang

Kemampuan untuk menempel pada inang merupakan prasyarat utama yang akan menentukan keberhasilan bakteri dalam melakukan kolonisasi dan mensekresikan faktor-faktor virulnsinya. Bila tidak patogen akan terlepas dari inang karena pencucian.

Pathogen masuk melalui :

### 1. Penetrasi lewat insang

Insang :

- a. secara konstan terbilas oleh air yang mungkin mengandung pathogen
- b. diselaputi oleh mukus yang tipis
- c. tersusun atas lapisan sel yang lembut dan hanya satu lapis memisahkan sistem peredaran darah dan lingkungan.
- d. tempat penting bagi masuknya patogen

Mekanisme :

Penempelan partikel ke permukaan sel insang dan diikuti penelanan (engulfment) oleh sel epitel dan ditransferkan ke fagosit mononuklear dan disebarkan ke tempat lain.

## 2. Penetrasi lewat gastrointestinal tract ( GI )

Pada fase larva ikan, infeksi lewat GI banyak terjadi pada banyak patogen ikan dikarenakan sekresi perut yang mematikan masih belum berkembang dibandingkan ikan dewasa.

Meskipun GI digunakan sebagai rute bagi banyak patogen ikan, untuk *Vibrio anguillarum* dan *Aeromonas salmonicida*, GI bukan merupakan rute yang biasa.

- Dibutuhkan jumlah bakteri yang banyak untuk membunuh ikan jika dilakukan per os.
- Uji tatang dengan bakteri tsb tidak menghasilkan kematian ikan.

Kemampuan untuk menghadapi sekresi stomach dan melewati epitel usus.

Infeksi via GI bukan merupakan masalah bagi bakteri *E. tarda*, *Y. ruckeri*, atau *A. hidrophila*.

## 3. Penetrasi lewat kulit

Kulit pintu masuk utama bagi *V. anguillarum*.

#### 4. Penetrasi lewat jalan lain

- Olfactory sac pada channel catfish: *E. ictaluri*
- Mata dan telur: *R. salmoninarum*

#### II. Postentry (penyebaran)

Sistemic Infection: patogen disebarkan ke berbagai organ dan jaringan lewat darah, sebagai sel bebas atau via sel fagosit terinfeksi.

Kecepatan organ – organ dikolonisasi patogen tergantung :

- Dosis infeksi yang masuk ke tubuh ikan
- Laju patogen bermultiplikasi dalam jaringan ikan

Ex:

- *V. anguillarum* : 72 hpi (hour postinfection) terdapat pada organ ginjal, hati, dan limfa, 10<sup>6</sup> – 10<sup>9</sup> sel/g
- *P. piscisida* ditemukan di insang, stomach, spleen, kidney 72 hpi.

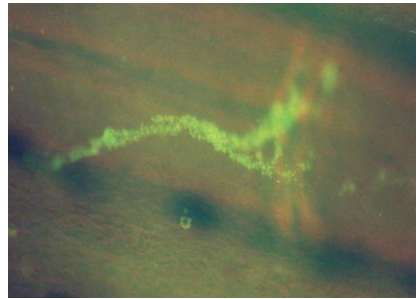
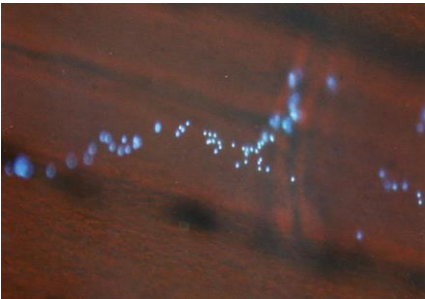
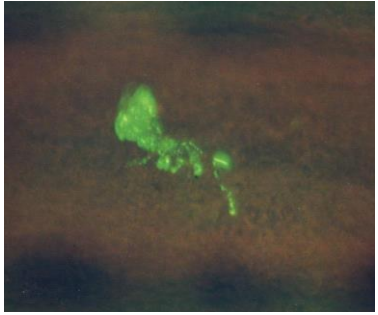
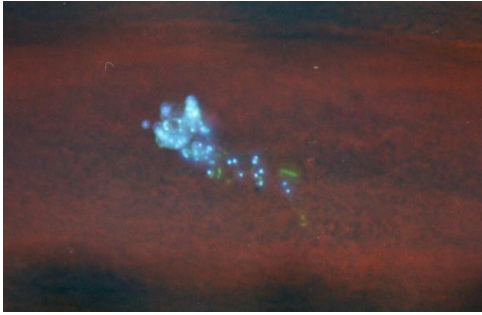


Table 1. Fate of *Vibrio anguillarum* in the tissues of ayu (*Plecoglossus altivelis*) infected by water born method

Tissue	Log number of viable cells of <i>V. anguillarum</i> per 1 g of tissue					
	Time after infection (hours)					
	6	12	24	36	45 (Moribund)	48 (dead)
Skin	-*	2.4	4.7	7.4	7.4	8.4
Muscle	-	-	2.5	5.6	6.8	7.5
Spleen	-	-	3.5	6.4	8.6	9.0
Liver	-	-	2.7	5.8	7.5	8.7
Gill	-	-	-	4.5	7.0	7.6
Intestine	-	-	-	-	7.4	6.9

Table 2. Fate of *V. anguillarum* in the tissues of ayu infected by water born method

Tissue	Cells of <i>V. anguillarum</i> per on tissue of fish				
	Time after infection (hours)				
	6	12	24	36 (Moribund)	8-45
Skin	-	+	+	+	+
Muscle	-	-	+	+	+
Spleen	NE*	-	+	+	+
Liver	NE	-	+	+	+
Gill	NE	-	-	+	+
Intestine	NE	-	-	+	+

Table 3. Presence of *A. salmonicida* in blood of Atlantic Salmon following infection via the oral route, gills, lateral line, flank, anus, and ventral surfaces

Time after challenge	Infection via :					
	Oral route	gills	Lateral line	flank	Anus	ventral surface
2 min	-	-	-	-	-	+
5 min	-	-	-	+	+	+
10 min – 1h	-	-	-	-	-	-
2h	-	+	+	+	+	-
3h	-	+	-	+	+	+
4h	-	+	-	+	+	+
5 – 9h	+	+	+	+	+	+

Table 4. Mortalities (%) in groups of Atlantic Salmon following *A. salmonicida* infection via the oral route, gills, lateral line, flank, anus, and ventral surfaces

Time after challenge (days)	Infection via :					
	Oral route	gills	Lateral line	flank	Anus	ventral surface
1-4	0	0	0	0	0	0
5	0	25	0	0	0	0
6	0	75	50	0	50	25
7	0	-	0	25	25	25
Total	0	100	50	25	75	50

### III. Mekanisme Survive pada tubuh ikan

#### A. Survive menghadapi faktor – faktor humoral

Ex: *Aeromonas salmonicida*

- mempunyai lapisan protein A ( A layer ) yang melindungi sel dan LPS.
- struktur tersebut mencegah akses komplemen (melali alternative pathway) ke lokasi target yang cocok pada *A. salmonicida*
- kemungkinan lain: kuantitas berlebih sialic acid pada *A. salmonicida* melindunginya dari aktivasi komplemen. Perlu ditelaah lagi apakah sialic acid merupakan faktor resitant serum pada *A. salmonicida*.

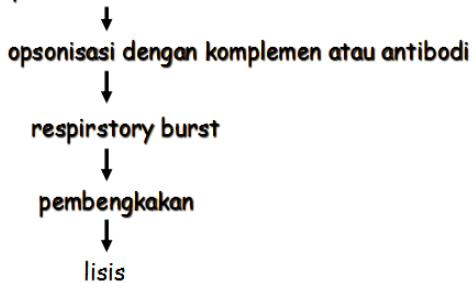
- Produksi sialic acid sebagai penekan aktifitas komplemen juga merupakan mekanisme survive E. tarda di dalam serum channel catfish.
- *V. anguillarum* dan *Y. ruckeri* sedikit memproduksi sialic acid tetapi resisten terhadap serum ikan normal. Diduga adalah protein permukaan sel (cell surface proteins) melindungi senyawa bakterisidal dalam serum seperti komplemen dan lysozim kontak dengan tempat yang dapat diserang pada permukaan sel bakteri

## B. Survival dalam sel-sel fagositik

**Pada ikan sel-sel fagositik :**

- granulosit (terutama neutropil )
- mononuclear phagocyte (makrophage dan monosit)

**Neutrophil → penelanan bakteri**



**Makrophage :** menyebar pada jaringan - jaringan usus, insang, ginjal, limpa dan jantung.

*Edwardsiella ictaluri* :

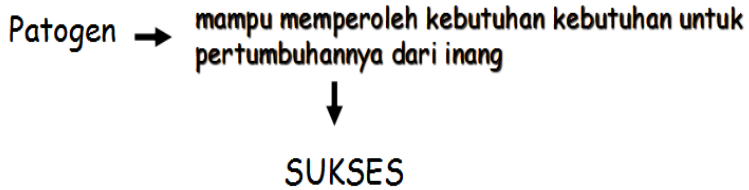
Virulen strain lebih siap dan cepat menempel pada pagositik sel dibanding avirulen strain.

- LPS dan lapisan protein A memfasilitasi penempelan dan melindunginya melawan kondisi lingkungan tidak menguntungkan (asam) dan aktifitas enzim hidrolitik dalam phagolysosome.
- LPS juga menekan respon respiratory burst dalam neutropil ikan.

*Aeromonas salmonicida* :

- Avirulen strain lebih rentan terhadap penelanan dan penghancuran oleh makrophage dibanding virulen strain.
- Peran lapisan protein A pada virulen strain, sedangkan avirulen strain tidak punya lapisan protein A.
- Virulen strain lebih resisten terhadap penghancuran oleh superoksida anion (produk respon respiratory burst)
- Toksin 25 kDa phospholipase memperlihatkan aktifitas leucocytolytic, khususnya bila bergabung dengan LPS

IV. Faktor–faktor virulensi yang berperan pada pertumbuhan sel bakteri pada inang.



### 1). Kebutuhan zat besi (iron)

Iron : dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri tetapi suplay di dalam jaringan inang terbatas karena adanya glikoprotein pada inang (transferin dan laktoferin) yang mengikat iron sangat kuat.

Bakteri harus memproduksi iron-gathering substances yang bisa berkompetensi dengan transferin

- Gen pengkode iron scavening pada *V. anguillarum* terletak pada plasmid dan beberapa pada kromosome.
- Sistem pemenuhan kebutuhan iron difasilitasi oleh molekul siderophore dan iron regulated outer membran protein (IROMP) yang berperan sebagai receptor untuk siderphore.
- Bila bakteri kehilangan plasmid pembawa virulensi maka virulensi akan menurun

## 2. ECP ( Extracellular Product )

- ex: - *V. anguillarum* menghasilkan protease, hemolisin, cytosin dan dermatosin.
- *A. salmonicida* menghasilkan protease, hemolisin, cytosin dan dermatison dan phospholipase
  - *Y. ruckeri* menghasilkan protease, hemolisin, dan dermatison
- ECP menyebabkan
- gangguan mekanisme pertahanan
  - lisis sel
  - hidrolis jaringan tubuh memfasilitasi penyebaran patogen dalam tubuh inang dan melepaskan nutrisi yang dibutuhkan patogen.

Beberapa contoh ECP yang sudah dimurnikan :

1. 70 – kDa protease ( caseinase ) pada *A. salmonicida*
  - resisten terhadap semua serum protease inhibitor kecuali  $\alpha$  2–makroglobulin
  - Mencairkan jaringan tubuh inang
  - menggumpalkan darah
  - lethal pada ikan pada 2 – 4  $\mu$ g/g ikan.
2. 25 – kDa phospholipase pada *A. salmonicida*
  - hemolitik untuk eritrosit dan lethal 45  $\mu$ g/g ikan.

## SEL & JARINGAN PADA SISTEM KETAHANAN TUBUH IKAN (SISTEM IMUN)

Imunitas : resistensi terhadap penyakit terutama penyakit infeksi

Sistem imun : gabungan sel,molekul dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi.

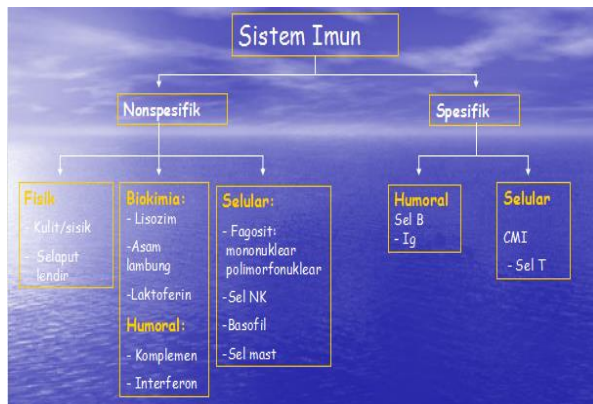
Respon imun: reaksi yang dikordinasi sel-sel, molekul-molekul terhadap mikroba dan bahan lainnya.

Sistem imun diperlukan tubuh ikan untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan.

Pertahanan imun terdiri atas:

Sistem imun alamiah atau nonspesifik (natural/innate/native)

Sistem imun didapat atau spesifik (adaptive/acquired)



Perbedaan sistem imun nonspesifik dan spesifik

Imunitas nonspesifik

Positif:

- Selalu siap
- Respons cepat
- Tidak perlu ada paparan sebelumnya

Negatif:

- Dapat berlebihan
- Kekeurangan memori

Imunitas spesifik

Negatif:

- Tidak siap sampai terpapar antigen
- Respon lambat

Positif:

- Respon intens
- Perlindungan lebih baik pada paparan berikutnya

Perbedaan sifat-sifat sistem imun nonspesifik dan spesifik

Nonspesifik

Resistensi: Tidak berubah oleh infeksi

Spesifitas: Umumnya efektif terhadap semua mikroba

Sel yang penting: Fagosit, Sel NK, eosinofil

Molekul yang penting: Lisozim, komplemen, interferon, CRP, kolektin, molekul adhesin

Spesifik

Resistensi: Membaik oleh infeksi berulang (= memori)

Spesifitas: Spesifik untuk mikroba yang memapar sebelumnya

Sel yang penting: Sel T helper, T delayed type hipersensitivity (Tdth), T cytotoxic, T suppressor, sel B

Molekul yang penting: Antibodi, sitokin, molekul adhesin

## **1. SISTEM IMUN NON SPESIFIK**

- Tidak ditujukan terhadap mikroba tertentu, telah ada dan siap berfungsi sejak lahir.
- Mekanismenya tidak menunjukkan spesifisitas terhadap bahan asing dan mampu melindungi tubuh terhadap banyak patogen potensial.
- Merupakan pertahanan terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroba.

### **A. PERTAHANAN FISIK / MEKANIK**

- Kulit dan mukus merupakan garis pertahanan terdepan terhadap infeksi.
- Lapisan epidermis kulit sehat dan epitel mukosa yang utuh sukar ditembus kebanyakan mikroba.

- Kulit dan lapisan mukus yang rusak akibat luka akan meningkatkan resiko infeksi.

## **B. PERTAHANAN BIOKIMIA**

- Lisozim dalam kelenjar mukus melindungi tubuh terhadap berbagai bakteri positif karena dapat menghancurkan peptidoglikan dinding sel.
- Asam hidroklorida dalam lambung, enzim proteolitik dalam usus membantu menciptakan lingkungan yang dapat mencegah infeksi mikroba.
- Laktoferin dan tranferin dalam jaringan mengikat besi yang merupakan metabolit esensial untuk hidup bakteri.

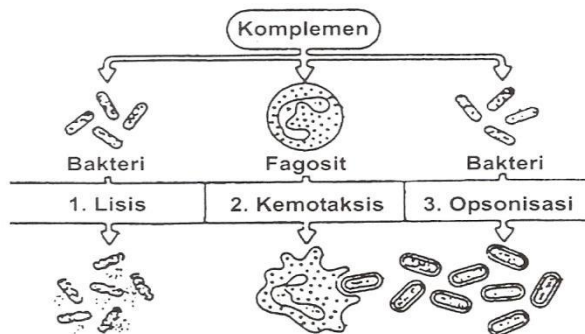
## **C. PERTAHANAN HUMORAL**

### 1. Komplemen

- Komplemen terdiri atas sejumlah besar protein yang bila diaktifkan akan memberikan proteksi terhadap infeksi dan berperan dalam respon inflamasi.
- Komplemen diproduksi oleh neutrophil dan makrofag.
- Komplemen dapat diaktifkan secara langsung oleh mikroba atau produknya ( jalur alternatif dalam imunitas

nonspesifik ), atau diaktifkan oleh antibodi ( jalur klasik dalam imunitas spesifik ).

- Komplemen berperan sebagai opsonin yang meningkatkan fagositosis, sebagai faktor hemotaktik dan menimbulkan destruksi/lisis bakteri.



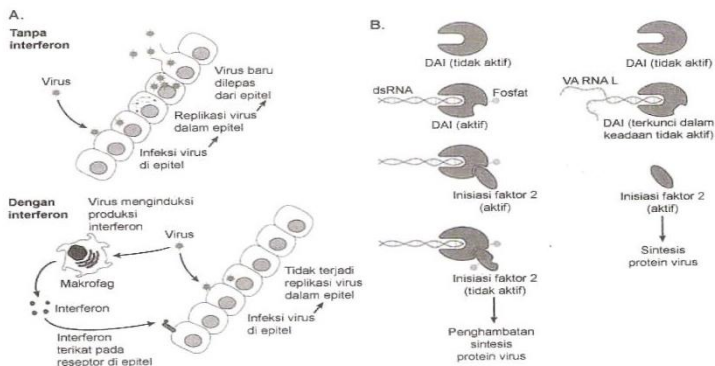
Gambar 6. Fungsi komplemen

## 2. INTERFERON ( IFN )

- Interferon adalah sitokin berupa glikoprotein yang diproduksi makrofaga yang diaktifkan, sel NK dan

berbagai sel tubuh yang mengandung nukleus dan dilepas sebagai respon terhadap infeksi virus.

- IFN mempunyai sifat antivirus dan dapat menginduksi sel – sel sekitar sel yang terinfeksi virus menjadi resisten terhadap virus.
- IFN juga dapat mengaktifkan sel NK. Sel yang diinfeksi oleh virus akan meningkatkan perubahan pada permukaannya yang akan dikenal dan dihancurkan sel NK.



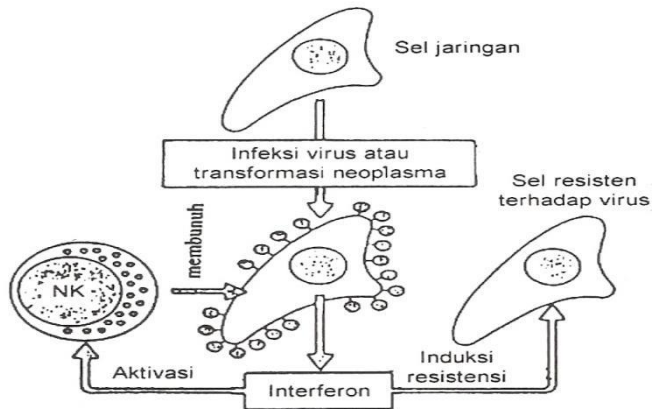
Gambar 8. Peran IFN tipe I pada respons imun nonspesifik terhadap infeksi virus

A. Tanpa IFN (atas) virus dapat menginfeksi sel inang dan berimplikasi dalam sel membentuk asam nukleat dan protein virus baru, menyebarkan virulensi virus dari sel satu ke

lainnya. Bila IFN diproduksi (bawah), IFN berikatan dengan reseptor pada permukaan sel inang dan menghentikan sintesa protein.

B. IFN bekerja melalui induksi sintesa protein DAI double-stranded RNA activated inhibitor of translation (kiri). DAI diinaktifkan bila berikatan dengan dsRNA yang sering ditemukan dalam genom banyak virus. DAI aktif menimbulkan fosforilase dan inaktivasi initiation factor 2

eukariosit. Kanan, beberapa virus (adeno virus) mampu mencegah aktivitas DAI.



**Gambar 7. Fungsi sel NK**

### 3. PROTEIN FASE AKUT

- Selama terjadi infeksi, produk bakteri seperti LPS mengaktifkan makrofaga sel lain untuk melepas berbagai

sitokin seperti : Intelekuin-1, Tumor Necrosis Factor, dan interlekuin-6.

- Sitokin–sitokin tersebut mensintesa dan melepaskan sejumlah protein plasma yang disebut protein fase akut.

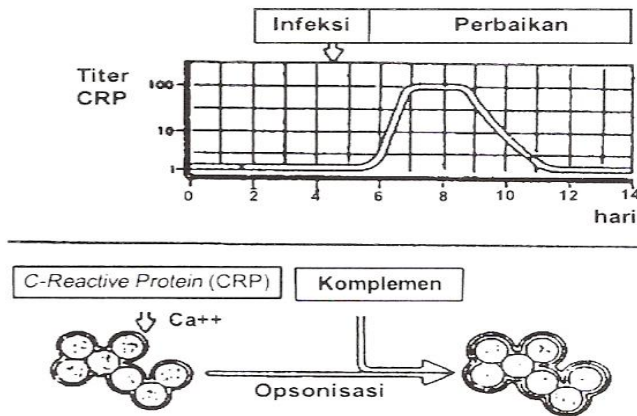
**Tabel 2. Protein Fase Akut**

Reaktan Fase Akut	Peran
<b>Peningkatan kadar sangat tinggi:</b>	
CRP	Mengikat komplemen, opsonin
MBL	Mengikat komplemen, opsonin
Asam glikoprotein a1	Transpor protein
Komponen amiloid P serum	Prekursor komponen amiloid
<b>Peningkatan kadar sedang:</b>	
Inhibitor proteinase a1	Mencegah protease bakteri
Antikimotripsin a1	Mencegah protease bakteri
C3, C9, faktor B	Meningkatkan fungsi komplemen
Seruloplasmin	O <sub>2</sub> <sup>-</sup> scavenger atau bangkai
Fibrinogen	Koagulasi
Angiotensin	Tekanan darah
Haptoglobin	Mengikat hemoglobin
Fibronektin	Mengikat sel

**a. C – REAKTIF PROTEIN (CRP)**

- CRP mengikat berbagai mikroorganismen yang membentuk kompleks dan mengaktifkan komplemen lewat jalur klasik.

- Pengukuran CRP berguna untuk menilai aktifitas penyakit inflamasi.
- CRP dengan bantuan  $Ca^{+2}$  mengikat berbagai molekul ( ex. Fosforilkolin ) yang ditemukan pada permukaan bakteri dan dapat mengaktifkan komplemen.



Gambar 9. *C-Reactive Protein*

b. MANNAN BINDING LECTIN (MBL)

- MBL berperan untuk mengaktifkan komplemen.

- MBL juga reaktan fase akut, yang dapat mengikat residu manosa pada permukaan banyak bakteri dan berperan sebagai opsonin.

**Tabel 3. Faktor antimikrobal nonantibodi dalam plasma**

Faktor	Aktivitas biologi
C3a	Anafilatoksin, melepaskan histamin dari sel mast, menimbulkan kontraksi otot polos
C4a	Seperti C3a, tetapi 100x lebih aktif
C5a	Seperti C3a, juga sangat aktif menginduksi kemotaksis dan degranulasi neutrofil; juga meningkatkan produksi superoksida neutrofil
C3b	Opsonisasi
Fibronektin	Glikoprotein yang meningkatkan adhesi sel; berfungsi sebagai opsonin
IFN	Protein yang menginduksi produksi protein antivirus
Transferrin	Protein yang mengikat besi, yang mencegah mikroba memperoleh ion esensial untuk tumbuh
Lisozim	Mukopeptidase yang menghidrolisis peptidoglikan dinding sel bakteri; hilangnya struktur, sel menjadi sensitif terhadap lisis osmotik
CRP	Sebagai opsonin, mengikat komponen dinding bakteri terutama fosforilkolin pada <i>S. pneumoniae</i> , juga mengaktifkan komplemen

#### 4. KOLEKTIN

Protein yang berfungsi sebagai opsonin yang dapat mengikat hidrat arang pada permukaan mikroba. Kompleks yang terbentuk diikat reseptor fagosit untuk dimakan.

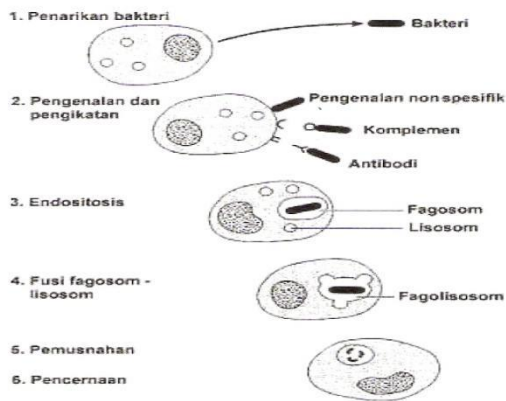
#### D. PERTAHANAN SELULAR

Fagosit, makrofaga dan sel NK berperan dalam sistem imun nonspesifik selular.

##### 1. Fagosit

- Diperantai oleh sel mononuklear ( monosit dan makrofag ) serta sel polimorfonuklear ( granulosit: neutrofil, basophil, eosinophil )

- Sel – sel tersebut berperan sebagai sel yang menangkap antigen, mengolah dan selanjutnya mempresentasikannya kepada sel T.
- Fagositosis yang efektif pada invasi kuman dini akan dapat mencegah timbulnya infeksi.



**Gambar 10. Proses fagositosis dalam berbagai tahap**

Tingkat akhir fagositosis adalah pencernaan protein, polisakarida, lipid, dan asam nukleat didalam sel oleh enzim lisosom.

## 2. Makrofag

Monosit didalam sirkulasi darah bermigrasi ke jaringan dan disana berdeferensiasi menjadi makrofage

yang seterusnya hidup dalam jaringan sebagai makrofag residen.

### 3. Sel NK

Limfosit terdiri atas sel B, sel T, dan sel NK. Berfungsi dalam imunitas nonspesifik terhadap virus dan sel tumor. Secara morfologis sel NK merupakan limfosit dengan granula besar. Ciri-cirinya memiliki banyak sekali

sitoplasma ( limfosit T dan B hanya sedikit memiliki sitoplasma )

## II. Sistem Imun Spesifik

- Mempunyai kemampuan untuk mengenal benda yang dianggap asing baginya.
- Benda asing yang sama bila terpapar ulang akan dikenali lebih cepat, kemudian dihancurkan.
- Oleh karena sistem ini hanya dapat menyingkirkan benda asing yang sudah dikenal sebelumnya, maka disebut spesifik.
- Terjalin kerjasama yang baik antara antibodi-komplemen-fagosit dan antara sel T-makrofag.

### A. Sistem imun spesifik humora

- Pemeran utama adalah limfosit B atau sel B
- Bila sel B dirangsang, sel tersebut akan berploriferasi, berdiferensiasi dan berkembang menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi.
- Fungsi antibodi adalah pertahanan terhadap infeksi ekstraselular, virus dan bakteri serta menetralkan toksinnya.

### B. Sistem imun spesifik selular

- Limfosit T atau sel T berperan pada sistem imun spesifik selular.
- Sel T terdiri atas beberapa sel subset dengan fungsi yang berlainan yaitu helper sel T (Th), reseptor sel T (TCR), Sel T delayed type hypersensitivity (Tdth), Cytotoxic T Lymphocyte (CTL), T supresor.
- Fungsi utama adalah untuk pertahanan terhadap bakteri yang hidup intraselular, virus, jamur, parasit dan keganasan.
- Yang berperan pada imunitas selular adalah sel CD4+ yang mengaktifkan Th dan yang selanjutnya mengaktifkan

makrofag untuk menghancurkan mikroba dan sel CD8+ yang memusnahkan sel terinfeksi.

### Perbedaan imunitas spesifik humoral dan selular

	Imunitas humoral	Imunitas seluler	
		Ekstraselular	Intraselular
Mikroba	Mikroba ekstraselular	Fagositosis oleh makrofag	Mikroba intraselular (virus) berkembang biak dalam sel terinfeksi
Respon limfosit	Sel B	Th	CTL
Mekanisme efektor dan fungsi	Antibodi mencegah infeksi dan menyingkirkan mikroba ekstraselular	Makrofag yang diaktifkan memusnahkan mikroba yang dimakan	CTL memusnahkan sel terinfeksi dan menyingkirkan sumber infeksi

### Immune Tissues and Organs

Immunocompetent organ paling utama :

- thymus
- kidney
- spleen
- liver

Thymus : mengembangkan T- limphocyte ( helpers, killer cell )

Kidney : - penting baik dalam imunitas dan hematopoiesis, tempat diferensiasi sel-sel darah.

- Pada fase awal perkembangan organ respon imun dilakukan oleh seluruh kidney.
- Dewasa, bagian depan digunakan untuk respon imun, dan belakang untuk penyaringan darah, aktifitas urinary.
- Darah mengalir perlahan melalui ginjal dan antigen “ terjebak “ atau terekspose ke sel-sel retikuler, macrophage, lymphocyte.
- Anterior ( depan ) adalah tempat dimana “ memori “ terjadi.

Spleen : Kedua setelah kidney, terlibat didalam immune reactivity dan blood cell formation, mengandung lymphocytes dan macrophage.

Liver : terlibat dalam produksi komponen dari komplemen.

Mucus dan skin : natural barrier, mempunyai molekul-molekul dengan aksi-aksi imun :

- Lysozyme
- complement
- Natural antibody and immunoglobulin ( Ig )

- Spesifik antibodi terkadang ditemukan dalam mucus  
Ictalurus punctatus dan Onchorhynchus  
mykiss.

## **SISTEM PERTAHANAN TUBUH NON SPESIFIK:**

### **Mekanisme Fisik, Mekanik dan Kimiawi**

Kulit, selaput lendir pertahanan primer lengkap permukaan tubuh paling luar mencegah masuknya bahan asing secara fisik & mekanik 5 stratum tebal, menghasilkan lendir

Mekanik: Kulit ari daun, eksoskeleton serangga, kulit telur, pertahanan awal infeksi

Kimia: Kulit, sistem pernapasan mengeluarkan peptida antimikroba  $\beta$ -defensin Mukus (lendir) sekresi selaput mukosa, mencegah perlekatan mikroba dg sel epitel permukaan tubuh

Mikroba/antigen terjerat dalam mukus dikeluarkan secara mekanik, diare, batuk atau bersin, hipersalivasi, urinasi dan air mata Sekresi cairan tubuh: bakterisidal asam lambung,

spermine & zinc semen, laktoperoksidase susu, lisozim air mata, saliva, cairan sekresi hidung.

Schematic showing membrane that a chemical may need to cross from the environment to the site of action (Hodgson and Levi, 1994)

Enzim lisozim, fosfolipase A2 air liur, air mata, ASI memiliki sifat antiseptik Sekresi vagina selama menstruasi, zinc pd semen untuk membunuh patogen asam lambung, protease pertahanan kimia flora komensal bersaing dg patogen unt makanan dan tempat mengubah kondisi lingkungan, seperti pH/kadar ion besi saluran cerna, menjadi tidak sesuai untuk patogen

Pemakaian antibiotika yang tidak tepat menimbulkan gangguan keseimbangan pertumbuhan mikroflora pd saluran genitalia. Antibiotik efektif untuk bakteri, tidak untuk fungi, shg fungi tidak terkendali menyebabkan kandidiasis vagina. Probiotik, bakteri laktobasillus pada yoghurt, mengembalikan keseimbangan populasi mikrobial pada

infeksi usus, memperbaiki kondisi saluran cerna pada gastroenteritis

sistem imun bawaan menyediakan perlindungan segera, tapi respon tidak-spesifik

Antigen yang berhasil menembus selaput permukaan tubuh berhadapan dengan sistem pertahanan non spesifik fagositosis

Sel yang berperan makrofag/sel radang polimorf (polymorphonuclear/PMN)

Fungsi makrofag

membunuh, menghancurkan, mengeliminasi antigen dari tubuh

sebagai Antigen Presenting Cells (APC)/sel penyaji/sel pendadah menghancurkan antigen sehingga dapat berinteraksi dengan sistem imun spesifik atau antibodi.

Mekanisme kekebalan non-spesifik = kekebalan alamiah (innate immunity) pertahanan inang yang responnya tidak tgr kontak antigen tertentu

Respon kekebalan spesifik (humoral mediated immunity & cellular mediated immunity) tgt kontak inang dg antigen tertentu sebelumnya (= adaptive immunity)

Fungsi sistem kekebalan non-spesifik juga terlibat dalam sistem kekebalan spesifik

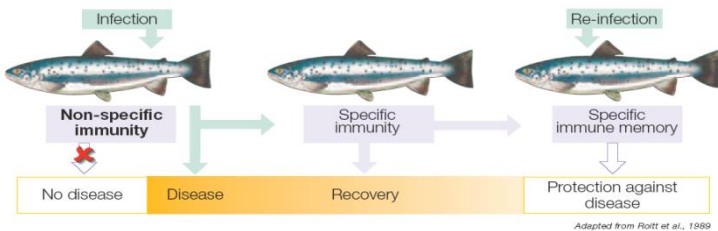
Sistem pertahanan ikan akan terbentuk sempurna saat ikan telah dewasa. Pada benih, sistem kekebalan tubuh sudah

terbentuk tetapi belum berfungsi optimal sehingga kurang efisien menahan infeksi patogen sehingga rentan penyakit

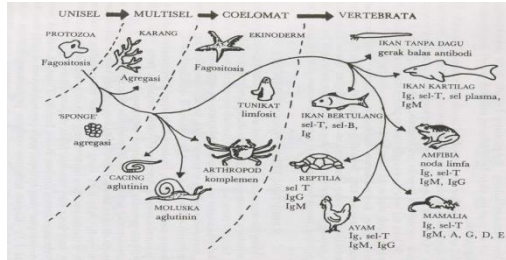
Sistem pertahanan non spesifik, pertahanan terdepan menghadapi patogen karena memberikan respon langsung thdp antigen

Sistem pertahanan tubuh non spesifik tdd kulit & selaput mukosa

Sistem pertahanan tubuh spesifik, kekebalan khusus yang membuat limfosit peka untuk segera menyerang patogen tertentu



Gambar Respon kekebalan non-spesifik dan spesifik pada tubuh ikan dalam upaya melawan infeksi patogen (Sumber: Roitt *et al.*, 1989).



Gambar Sistem pertahanan tubuh yang dimiliki oleh beberapa golongan organisme.

- Pertahanan pertama: pertahanan fisik meliputi, sisik, kulit, dan mukus.
- Mukus menghambat kolonisasi mikroorganisma pada kulit, insang dan mukosa, mengandung IgM alami & bukan sebagai respon dari pemaparan antigen. Immunoglobulin merupakan antibodi yang dapat menghancurkan patogen yang menyerang tubuh.
- Sisik & kulit melindungi ikan dari luka & berperan mengendalikan osmolaritas tubuh.
- Kerusakan pada sisik atau kulit dapat mempermudah patogen menginfeksi inang.

## Immune Tissues and Organs

Mucus and skin: natural barriers, has molecules with immune actions:

- Lysozyme
- Complement
- Natural antibodies (Ab) and immunoglobulins (Ig)
- Specific antibodies tentatively reported in mucus of *Ictalurus punctatus* (Lobb, 1987); *Oncorhynchus mykiss* (St. Louis-Cormier et al., 1984)
- Zilberg and Klesius, 1997) showed mucus immunoglobulin elevated in *I. punctatus* after exposure to bacteria

## Natural Immunity and Disease Resistance

### 1. Non-specific immune cells

- **Monocytes and tissue macrophages:** most important cells in immune response, produce cytokines (Clem et al., 1985), primary cells involved in phagocytosis and first killing of

pathogens upon first recognition and subsequent infection (Shoemaker et al.,1997)

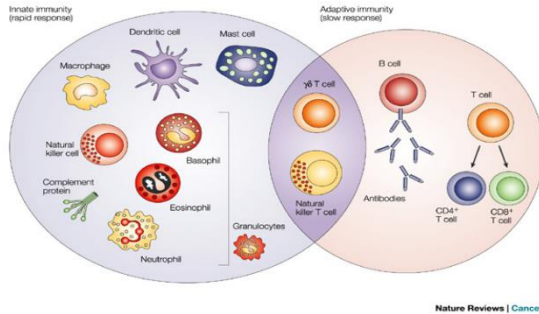
- **Neutrophils:** primary cells in early stages of inflammation (Manning, 1994), neutrophils produce cytokines to recruit immune cells to damaged or infected area; neutrophils are phagocytic in *I. Punctatus*, kill bacteria by extracellular mechanisms
- **Natural killer cells:** use receptor binding to target cells and lyse them; important in parasitic and viral immunity

Pertahanan kedua, pertahanan humoral bersifat plasmatik pada cairan dan jaringan tubuh.

Komponen pertahanan humoral kekebalan non-spesifik:

- **Lisozim**, dihasilkan leukosit serum darah, lendir (*mucus*), merupakan polisakarida mukolitik menyerang bakteri shg lisis/larut.
- **Interferon**, protein dihasilkan limfosit & sel-sel terinfeksi virus, pertahanan terhadap infeksi virus

- **Laktoferin & Transferin**, glikoprotein dihasilkan proses sekresi tubuh, serum atau ruang antara jaringan tubuh menghambat mikroba melalui pengikatan ion besi
- **Komplemen**, kompleks protein, karbohidrat, lipoprotein dihasilkan serum untuk membunuh/melisiskan bakteri & berperan dalam inflamasi.
- **Protein-protein dasar (histon, protein kationik)**, polipeptida dari serum untuk membunuh sel bakteri.
- **Fibronektin**, glikoprotein dari serum & mukus untuk proses opsonisasi
- **Interleukin**, protein dihasilkan makrofag & limfosit untuk mengaktivasi sel imun.



## Aktivitas Sel Pd Kekebalan Non-Spesifik Jika Antigen Masuk Ke Dalam Tubuh Ikan:

### **I. Mempertahankan diri dengan menghancurkan antigen melalui proses fagositosis.**

Sel-sel fagositik monosit (prekursor-prekursor makrofag), makrofag & granulosit (leukosit granular). Granulosit ikan mas, neutrofil jumlahnya melimpah yaitu 8%, basofil & heterofil sekitar 1%. Saat aktivasi, makrofag memiliki kapasitas fagositik lebih kuat dibandingkan granulosit, meskipun granulosit berjumlah lebih besar. Pada fagositosis, antigen dideteksi tanpa pengenalan terlebih dahulu melalui reseptor spesifik, ini merupakan mekanisme bawaan sebelum terjadinya aktivitas sel limfosit-T spesifik maupun terbentuknya antibodi.

## Natural Immunity and Disease Resistance

2) Phagocytosis: most primitive of defense mechanisms, occurs in stages

↓ Movement by chemotaxis (directional) or chemokinesis (non-d) of phagocytes in response to foreign object

↓ Attachment via lectins

↓ Engulfment of the foreign agent (simple movement into the phagocyte)

↓ Killing and digestion

- Oxygen-independent mechanisms: low pH, lysozyme, lactoferrin, proteolytic/hydrolytic enzymes
- Oxygen dependent mechanisms

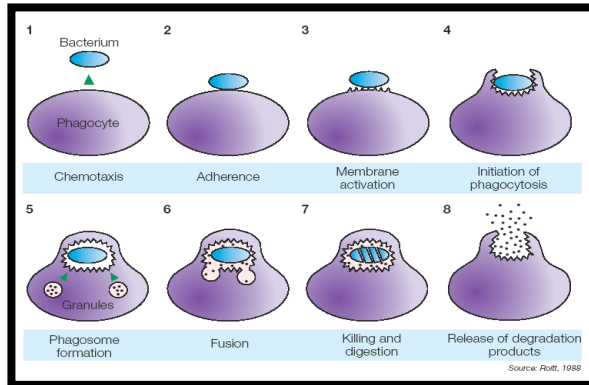
**Sel fagosit menghancurkan antigen melalui tiga tahap:**

(1) pelekatan, (2) fagosit dan (3) pencernaan.

- Proses fagosit terjadi apabila berada dalam jarak dekat dengan antigen/antigen harus melekat pada permukaan sel fagosit, shg fagosit bergerak menuju sasaran.
- Mekanisme tersebut terjadi krn dilepaskannya zat/mediator tertentu yang disebut faktor leukotaktik/kemotaktik dari antigen/ komplemen.
- Berarti antigen terlebih dahulu dilapisi oleh Ig atau komplemen (opsonisasi), agar lebih mudah ditangkap oleh fagosit. Patogen masuk ke dalam sel dengan cara endositosis dan oleh proses pembentukan fagosom, patogen terperangkap dalam kantong fagosom seolah-olah ditelan untuk dihancurkan, baik dalam proses oksidasi-reduksi maupun oleh derajat keasaman yang ada dalam fagosit.

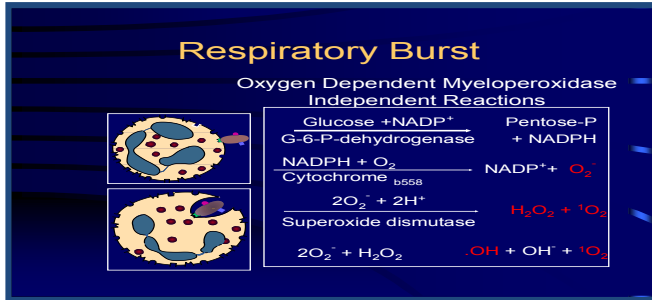
Proses fagositosis diawali oleh fase pergerakan (kemotaktik), perlekatan (*adhesi/attachment*), penelanan (*ingestion*), degranulasi & pembunuhan (*killing*). Inisiasi pergerakan karena dilepaskannya zat mediator tertentu yaitu faktor leukotaktik/kemotaktik dari

antigen/neutrofil/makrofag yang sebelumnya telah berada di lokasi antigen.



Gambar Proses fagositosis dan penghancuran partikel bakteri (Sumber: Roitt , 1988).

Proses penelanan bakteri terjadi karena fagosit membentuk tonjolan pseudopodia, membentuk kantung mengelilingi bakteri sehingga terperangkap dalam vakuola fagosom. Fagosom terdiri atas dinding bagian luar fagosit. Granula intraseluler berisi berbagai jenis enzim dan protein lain yang mampu membunuh, bergabung (fusi) dengan fagosom, terjadi degranulasi dan *respiratory burst*.



Gambar *Respiratory burst*, salah satu cara membunuh dan menghancurkan patogen yang ditelan oleh makrofag.

## II. Selain fagositosis, respon kekebalan non-spesifik kedua adalah reaksi inflamasi.

Sel-sel sistem kekebalan tersebar di seluruh tubuh, bila terjadi infeksi di satu tempat maka sel-sel kekebalan dipusatkan ke lokasi infeksi. Selama respon tersebut berjalan, terjadi proses penting, yaitu :

- peningkatan aliran darah yang banyak membawa sel polimorfonuklear (PMN) ke area infeksi, PMN gabungan: sel neutrofil, eosinofil dan basofil. Pada

ikan mas polimorfonuklear merupakan sel-sel neutrofil saja karena darah ikan mas tidak mengandung eusinofil dan basofil,

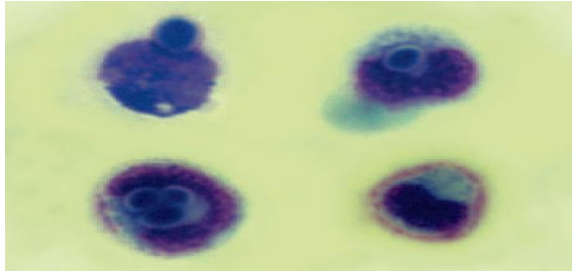
- peningkatan permeabilitas kapiler akibat retraksi sel-sel endotel yang mengakibatkan molekul-molekul besar dapat menembus dinding vaskular, dan migrasi leukosit ke luar vaskular.

## **Natural Immunity and Disease Resistance**

2) Phagocytosis: most primitive of defense mechanisms, occurs in stages

- ↓ Movement by chemotaxis (directional) or chemokinesis (non-d) of phagocytes in response to foreign object
- ↓ Attachment via lectins
- ↓ Engulfment of the foreign agent (simple movement into the phagocyte)
- ↓ Killing and digestion

- Oxygen-independent mechanisms:  
low pH, lysozyme, lactoferrin,  
proteolytic/hydrolytic enzymes
- Oxygen dependent mechanisms

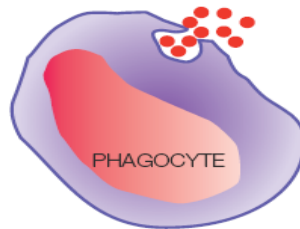


Gambar Mekanisme makrofag melakukan proses penelanan antigen melalui tahap pelekatan, fagosit dan pencernaan.

Sel makrofag & netrofil memiliki mekanisme pertahanan non-spesifik melalui proses chemotaksis dan pinocytosis.

**Chemotaksis:** sel fagosit dipancing oleh molekul untuk melakukan migrasi ke lokasi terjadinya inflamasi, kerusakan jaringan atau reaksi antigen-antibodi (immune reactions). Molekul/induktor chemotaksis dihasilkan patogen/komponen kekebalan tubuh seperti faktor komplemen.

**Pinocytosis** mekanisme mirip fagositosis, tetapi melalui proses pemasukan partikel (antigen) yang berukuran jauh lebih kecil daripada yang dilakukan pada proses fagositosis. Fenomena ini ditandai oleh proses pembukaan membran sel membentuk lubang (vakuola) kecil melalui proses endocytosis



Gambar proses pinocytosis partikel renik melalui endocytosis dengan membentuk vakuola kecil.

## **Natural Immunity and Disease Resistance**

### **3) Nonspecific Humoral Molecules:**

Molecule	Composition	Mode of Action
Lectins	Specific sugar-binding proteins	Recognition, precipitation, agglutination
Lytic enzymes	Catalytic proteins lysozyme, etc.	Hemolytic and antibacterial activity
Transferrin/lactoferrin	Glycoprotein	Iron binding
Ceruloplasmin	Acute-phase protein	Copper binding
C-reactive protein	Acute-phase protein	Activation of complement
Interferon	protein	Resistance to viral infection

### Natural Immunity and Disease Resistance

- Lytic enzymes are antibacterial molecules that cleave the  $\beta$  1,4 linkages n-acetyl muramic and n-acetyl glucosamine in bacterial cell walls
- Lysozyme (another enzyme) works on Gram-positive bacteria, complement on Gram-negative
- Acute-phase proteins are serum proteins: ceruloplasmin responsible for binding of copper, usually generated as the result of stress
- Nutrition also influences levels of C-reactive protein

### **Natural Immunity and Disease Resistance**

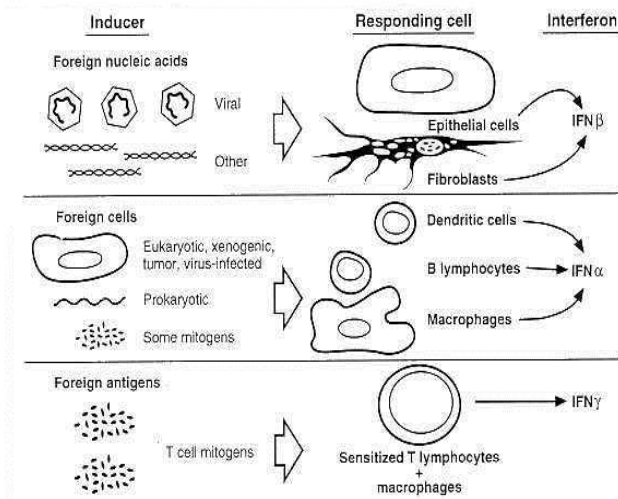
4) **Complement:** consists of 20 or more chemically different serum proteins + glycoproteins having enzyme function

- originally named “complement” because it was considered a biological substance *complementing* the action of antibody
- Instead, antibodies actually activate a series of reactions in serum known as the “complement cascade.”

- interacts with either a specific antibody, or acts non-specifically on surface molecules of bacteria, viruses and parasites; both pathways exist in fish (Sakai, 1992)
- **Action:** clears antigenic molecules, immune complexes, participates in inflammation and phagocytosis

### **Interferon (IFN)**

Protein dihasilkan sel T, fibroblas krn rangsangan virus, antigen, mitogen, DNA atau lektin. IFN a/b (aktivitas anti-virus) & IFN g (imun). a & b reseptornya sama, g reseptor lain. IFN berfungsi meningkatkan makrofag memusnahkan sel tumor, virus dan bakteria. IFN a & b IFN jenis I, stabil asam & dihasilkan leukosit & fibroblas. IFN g (jenis II atau IFN imun) tdk stabil asam & dihasilkan limfosit T yang diaktifkan antigen. Infeksi oleh hampir semua virus boleh ditangani IFN. Ia bertindak dengan cara membentuk 1 set protein kedua yang mengganggu translasi mRNA virus. Sel NK juga menghasilkan IFN g.



**Interferon a:** dihasilkan oleh makrofag & sel B. Menghambat replikasi virus, mempunyai aktivitas anti-proliferasi, pirogen (menimbulkan demam), merangsang aktivitas sel NK, mempengaruhi ekspresi antigen **MHC** kelas I. IFN a rekombinan untuk terapi beberapa jenis kanker: *Kaposi's sarcoma*, *hairy cell leukemia*, *renal cell carcinoma* & hepatitis kronik.

**Interferon b:** protein antivirus (20 kD) dihasilkan fibroblas & menghambat replikasi virus. Munculnya dipengaruhi RNA/DNA virus & poliribonukleotida.

**Interferon g:** limfokin glikoprotein (21-24 kD) dihasilkan sel T teraktif & sel NK, mempunyai aktivitas anti-proliferasi & antivirus, sangat kuat mengaktifkan fagosit mononukleus untuk memusnahkan mikroorganisma intrasel dan sel tumor, menyebabkan banyak sel mengekspresi molekul MHC kelas II serta meningkatkan ekspresi MHC kelas I, mengaktifkan sel NK.

Interferon g rekombinan untuk terapi penyakit Hodgkin, *acute lymphocytic leukemia*, & *mycosis fungoides*.

## SISTEM PERTAHANAN TUBUH SPESIFIK:

### A. PERTAHANAN TUBUH SELULER

#### SISTEM KOMPLEMEN

- Proses biokimia yang menyerang permukaan sel asing
- Sistem komplemen lebih dari 20 protein berbeda & dinamai karena kemampuannya "melengkapi" pembunuhan patogen oleh [antibodi](#). Komplemen komponen [humoral](#) utama dari respon imun bawaan
- asal kata "*to complete*" artinya melengkapi
- Komplemen: substansi protein dalam darah yang memiliki aktivitas biologis beragam dan bersifat termolabil (60oC, 1 jam), memiliki fungsi penting dalam sistem kekebalan
- Aktivasi komplemen dipicu oleh kompleks antigen-antibodi atau pemaparan mikroorganisme dilambangkan huruf "C" diikuti dengan angka, komponen komplemen aktif diberi tanda bar di atas lambang masing-masing

#### AKTIVASI KOMPLEMEN

Dengan 2 cara yakni:

- (a) cara klasik (*Classical pathway*)
  - (b) alternatif (*Alternative pathway*)
- Aktivasi terjadi secara beruntun sehingga produk yang timbul pada satu reaksi akan merupakan enzim pada reaksi berikutnya
  - Aktivasi jalur klasik mulai dengan C1, aktivasi jalur alternatif mulai dengan C3

- Aktivasi jalur klasik diaktifkan kompleks antigen-antibodi
- Jalur alternatif dipicu oleh bahan selain kompleks antigen-antibodi
- Kedua jalur aktivasi bertemu pada pertengahan sistem komplemen, selanjutnya kedua jalur reaksi mulai dari aktivasi C5 sampai C9 sama.
- Aktivasi jalur klasik terjadi oleh kompleks antigen-antibodi atau agregat imunoglobulin, larut atau yang melekat pada permukaan sel
- Imunoglobulin yang mengaktifkan jalur klasik adalah IgG1, IgG2, IgG3 & IgM, sedangkan IgG4, IgA, IgD dan IgE tidak mengaktifkan komplemen
- Aktivasi terjadi melalui pengikatan C1q dengan salah satu bagian fragmen Fc dari 1 atau lebih molekul IgG atau IgM
- Aktivasi jalur alternatif terjadi jika tubuh menghadapi munculnya mekanisme cepat karena ada sesuatu yang sangat bahaya seperti toksin, bisa ular, tanpa perlu dipicu oleh adanya kompleks antigen-antibodi
- Reaksi ini dapat terjadi bila ada C3b yang melekat pada permukaan sel.
- Pengaktifan komplemen secara “cascade”, reaksi air terjun, yaitu aktifnya 1 bagian komplemen bertindak sebagai enzim untuk mengaktifkan komplemen berikutnya
- Setiap tahap pengaktifan komplemen memiliki aktivitas biologis khas, yang akan menghancurkan antigen melalui mekanisme lisis membran antigen atau membran sel dimana antigen melekat (sitolisis)

- Aktivasi komplemen dapat merugikan inang, sebagai efek samping kerja sistem pertahanan dikenal dengan *autoimmune disease*
- Komplemen dapat berikatan dengan Ag tanpa adanya Ab, sehingga komplemen juga bertindak sebagai opsonin.

Komplemen C1 diaktivasi oleh Ag – Ab kompleks, yang akan mengaktifkan berturut-turut C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8 dan C9. Setelah C9 diaktivasi, maka C9 merusak tempat Ag-Ab kompleks di permukaan sel beserta selnya dengan cara perforasi membran sel menyebabkan cairan dan molekul mengalir ke dalam dan keluar sehingga sel menjadi lisis.

- **C1qrs** : Meningkatkan permeabilitas vascular
- **C2ab** : Mengaktifkan kinin
- **C3a dan C5a** : Kemotaksis yang mengerahkan leukosit dan juga berupa anafilatoksin yang dapat merangsang sel mast melepas histamin dan mediator-mediator lainnya
- **C3b** : Opsonin dan adherens imun
- **C4a** : Anafilatoksin lemah
- **C4b** : Opsonin
- **C5-6-7** : Kemotaksis
- **C8-9** : Melepas sitolisin yang dapat menghancurkan sel (lisis)

## **B. PERTAHANAN TUBUH HUMORAL**

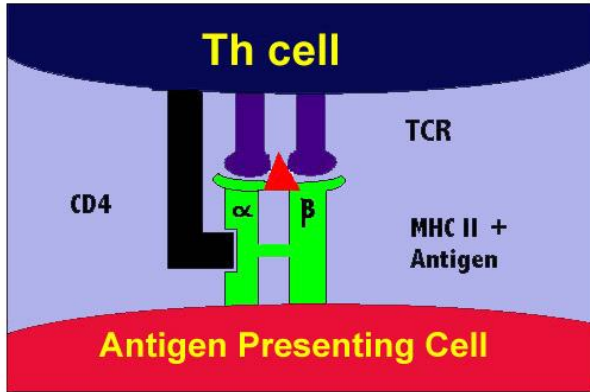
Sistem Kekebalan Spesifik

kekebalan humoral (humoral mediated immunity)

kekebalan yang diperantarai sel (cell mediated immunity)

### ***Kekebalan Humoral***

- Penyajian antigen oleh makrofag/*antigen presenting cell* (APC)
- Antigen terfraksinasi pd fagositosis diekspresikan ke permukaan sel APC melalui molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas II dan berinteraksi dengan limfosit Th (helper) melalui molekul CD4 (cluster of differentiation) & TCR (*T-cell Receptor*)
- Terjadi proliferasi limfosit Th menghasilkan sitokin Interleukin-1 (IL-1) yang merupakan mediator komunikasi limfosit Th & limfosit B
- Limfosit B menangkap signal IL-1 berproliferasi & matang menjadi sel plasma yang siap menghasilkan antibodi spesifik terhadap epitop antigen yang memaparnya.



Gambar Interaksi APC dengan sel Th, melalui molekul MHC II yang mengekspos antigen yang dimiliki oleh makrofag dengan molekul CD4 dan TCR yang dimiliki oleh sel Th.

Antibodi dari proses ini hanya bereaksi secara spesifik dengan antigen yang ada di permukaan sel, sehingga disebut sebagai kekebalan humoral/kekebalan permukaan (*Humoral Mediated Immunity/HMI*).

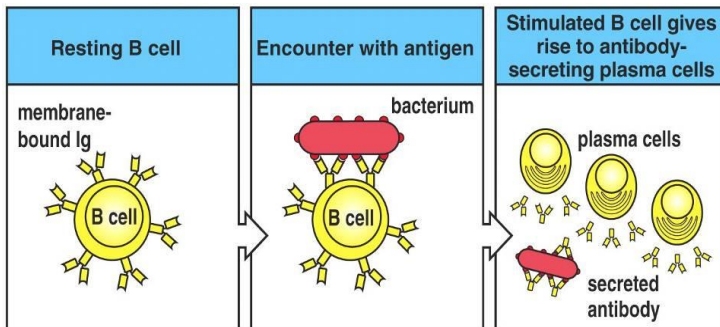
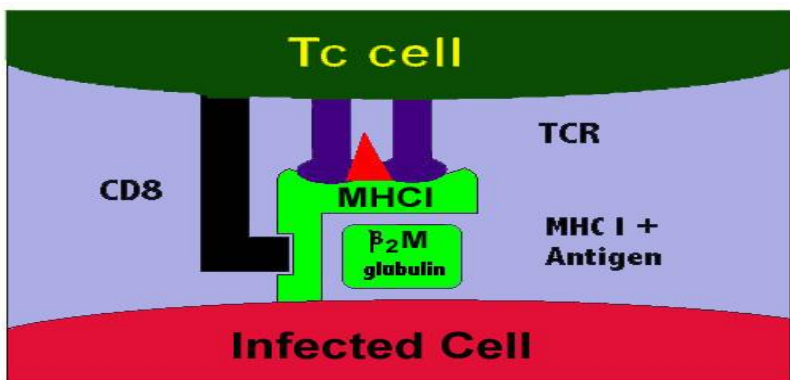


Figure 2-1 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

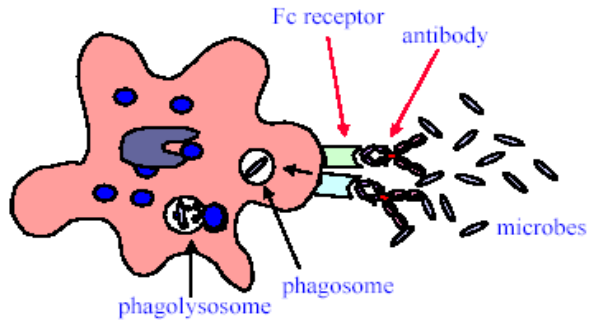
### ***Kekebalan Berperantara Sel (Cellular Mediated Immunity/CMI)***

- Antibodi bekerja terhadap antigen spesifik yg berada di luar sel (darah, cairan tubuh, jaringan interstitium)
- Eliminasi antigen di dalam sel dibutuhkan sistem kekebalan berperantara sel (CMI)
- Antigen dipresentasikan oleh APC ke Tc melalui MHC I Interaksi Tc & MHC I melalui molekul CD8 & TCR milik Tc
- Tc lalu mencari sel yang mengalami kelainan fisiologis menghancurkan sel & antigen di dalamnya
- Tujuan penghancuran/“bunuh diri” ini untuk mencegah penyebaran antigen intraseluler ke sel sehat lain di sekitarnya.



### *Opsonisasi (Pembunuhan Antigen)*

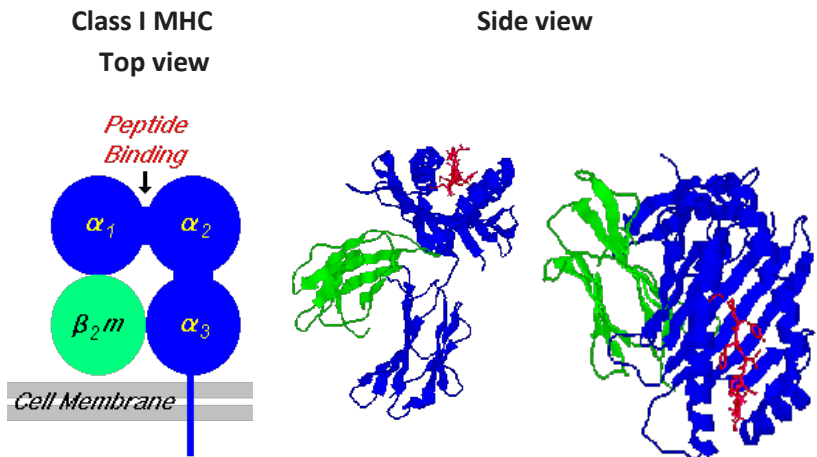
- Fungsi antibodi: inhibin, agglutinin, presipitin, bumbu (opsonin) bagi antigen
- Antigen yang bereaksi dengan antibodi homolognya, lebih mudah difagositosis makrofag yg memiliki reseptor terhadap Fc
- imunoglobulin (FcR) shg proses pembunuhan, penghancuran dan penyajian antigen oleh sel APC terjadi lebih efektif dan efisien.



Mekanisme perlekatan FcR makrofag pada antigen yang teropsonisasi.

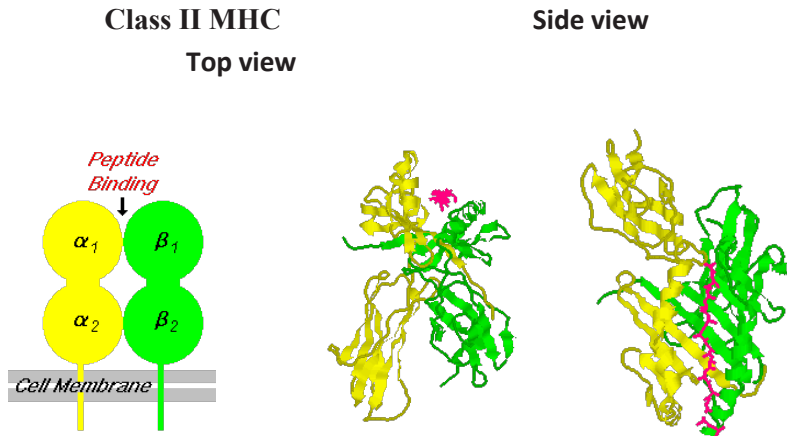
## CLASS I MOLECULES

Class I molecules composed of two polypeptide chains. This polypeptide folds into three separate domains called alpha-1, alpha-2 and alpha-3. Between the alpha-1 and alpha-2 domains lies a region bounded by a beta-pleated sheet on the bottom and two alpha helices on the sides. This region is capable of binding (via non-covalent interactions) a small peptide of about 10 amino acids. This small peptide is "presented" to a T-cell and defines the antigen "epitope" that the T-cell recognizes (see below). The MHC-encoded polypeptide is shown in blue, the  $\beta_2m$ -microglobulin is green and the peptide antigen is red.



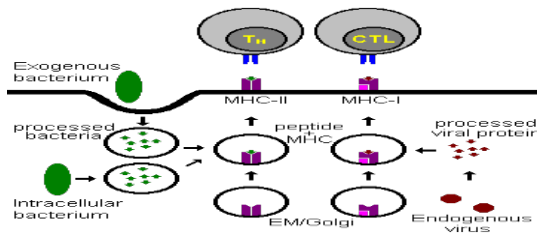
## CLASS II MOLECULES

Class II molecules composed of two polypeptide chains. These polypeptides fold into two separate domains; alpha-1 and alpha-2 for the alpha polypeptide, beta-1 and beta-2 for the beta polypeptide. Between the alpha-1 and beta-1 domains lies a region very similar to that seen on the class I molecule. The MHC-encoded polypeptides are shown in yellow and green, while the peptide antigen is shown in red.



## CLASS I vs CLASS II MOLECULES

class I molecules are found on virtually every cell in the human body. Class II molecules, are only found on B-cells, macrophages and other "antigen-presenting cells" (APCs). class I molecules present antigen to cytotoxic T-cells (CTLs) while class II molecules present antigen to helper T-cells (TH-cells). Class I molecules present "endogenous" antigen while class II molecules present "exogenous" antigens. An endogenous antigen might be fragments of viral proteins or tumor proteins. Exogenous antigens, fragments of bacterial cells or viruses that are engulfed and processed by e.g. a macrophage and then presented to helper T-cells. The TH-cells, in turn, could activate B-cells to produce antibody that would lead to the destruction of the pathogen.



## Prinsip Netralisasi dan Eliminasi

Antigen bahaya bagi tubuh jika dalam kondisi terlarut di cairan tubuh.

Antibodi bereaksi spesifik dg antigen membentuk senyawa kompleks berupa endapan (presipitat) & gumpalan (aglutinat) ditunjukkan melalui uji imunopresipitasi (imunodifusi) Agar Gel Precipitation Test (AGPT)/uji aglutinasi. Senyawa berbahaya dalam bentuk tidak larut, tidak memberi efek biologis terhadap induk semangnya. Antibodi berperan sebagai *presipitin* dan *agglutinin*. Cara lain antibodi menghalangi efek antigen dengan cara blokade, yaitu bereaksi dengan epitop antigen sehingga antigen tidak mampu mengenal reseptor sel inang menyebabkan kegagalan proses perlekatan antigen pada permukaan sel inang (antibodi bertindak sebagai *inhibin*). Cara lain antibodi untuk mempercepat eliminasi antigen dengan proses opsonisasi (antibodi sebagai *opsonin*) yakni antigen dalam keadaan teropsonisasi lebih mudah dikenal makrofag dan dihancurkan lebih efektif.

## ANTIGEN BINDING SITES OF ANTIBODY

- Antigen binding sites vary with size and shape of antigen
- Part of antigen to which antibody binds
  - Antigenic determinant (Epitope)
- Epitopes
  - Linear
  - Discontinuous
- Antigen-Antibody binding based on non-covalent forces
  - Hydrogen bonds

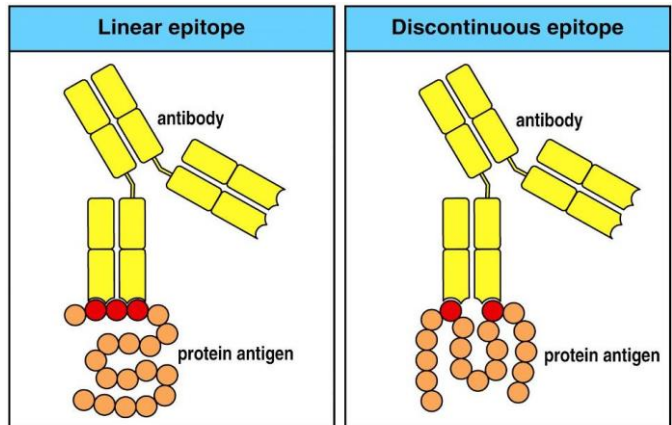


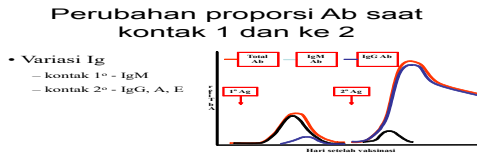
Figure 2-11 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

## **Respon Imun Primer dan Sekunder**

Bila antigen pertama kali masuk ke tubuh, terjadi respon imun primer ditandai munculnya IgM beberapa hari setelah pemaparan. Saat antara pemaparan antigen dan munculnya Ig disebut *lag phase*.

Kadar IgM mencapai pucaknya setelah 7 hari. 6-7 hari setelah pemaparan, dalam serum dapat dideteksi adanya IgG, sedangkan konsentrasi IgM mulai menurun sebelum kadar IgG mencapai puncaknya yaitu 10-14 hari setelah pemaparan antigen. Kadar antibodi kemudian berkurang tetapi biasanya masih dapat dideteksi 4 - 5 minggu setelah pemaparan.

Jika pemaparan antigen yang sama terjadi untuk kedua kalinya, terjadi pembentukan respon imun sekunder disebut *booster*. Baik IgM maupun IgG cepat meningkat secara nyata dengan lag phase yang pendek. Puncak kadar IgM pada respon sekunder tidak melebihi puncak pada respon primer, sebaliknya kadar IgG meningkat jauh lebih tinggi dan berlangsung lebih lama. Perbedaan dalam proses ini disebabkan karena adanya sel B & sel T *memory* serta antibodi yang tersisa akibat pemaparan pertama.



Gambar perubahan proporsi Ab saat kontak 1 dan 2.

Sel limfosit B *virgin* di sumsum tulang, belum pernah terpapar oleh antigen, menunjukkan respon yang lambat. Setelah rangsangan antigen, limfosit B berdiferensiasi menjadi sel plasma membentuk imunoglobulin, membelah lalu kembali dalam keadaan istirahat sebagai limfosit B memori. Rangsangan berikutnya pada sel B memori menyebabkan sel B berproliferasi menjadi sel plasma yang mensekresikan imunoglobulin spesifik. Pada saat paparan kedua, antigen dapat dikenal oleh sel pertahanan dengan lebih efisien. Karena jumlah sel B dan T spesifik juga lebih banyak, kemungkinan berinteraksi dengan antigen akan lebih besar, sehingga titer antibodi juga cepat meningkat. Antibodi tersisa juga dapat bereaksi dengan antigen, sehingga kompleks antigen-antibodi menjadi lebih mudah ditangkap oleh APC dan diproses.

### **Beda respon imun primer & sekunder adalah:**

- **Perbedaan waktu :** respon imun sekunder *lag phase* lebih pendek, waktu penurunan respon lebih panjang. Kadar antibodi respon sekunder lebih tinggi dapat 10x lebih tinggi dari kadar antibodi dr respon imun primer.
- **Perbedaan kelas antibodi :** respon imun primer, antibodi yang dihasilkan dalam jumlah banyak adalah IgM, sedangkan pada respon imun sekunder antibodi yang dihasilkan dalam jumlah banyak adalah IgG dengan hanya sedikit IgM.
- **Perbedaan afinitas antibodi :** Afinitas antibodi respon imun sekunder lebih tinggi dibanding antibodi pada respon imun primer.

### **Organ dan Sel Limfoid**

#### ***Organ Limfoid***

Sel sistem imun dibentuk dari *stem cells* di sumsum tulang. Sebagian menjadi calon sel mieloid fagosit, monosit,

makrofag & mikrofas, sebagian lagi menjadi calon sel limfoid, limfosit T & B

Organ limfoid tempat tumbuh kembang dan aksi limfosit, dibagi menjadi organ limfoid primer & sekunder.

- Organ limfoid primer: tempat embriogenesis & pematangan sel sistem imun, organ limfoid sekunder tempat limfopoiesis & interaksi limfosit dg antigen.

**Organ limfoid primer:** sumsum tulang, timus.

Sel T maturasi & diferensiasi di timus.

Sel B maturasi & diferensiasi di sumsum tulang .

Sumsum tulang juga mengandung sel-sel T matang & plasmosit sehingga sumsum tulang termasuk organ limfoid sekunder.

Sel limfoid di sumsum tulang bermigrasi ke organ limfoid perifer/sekunder.

**Organ limfoid sekunder:** sumsum tulang, kelenjar limfe, limpa, *Payer patches*.

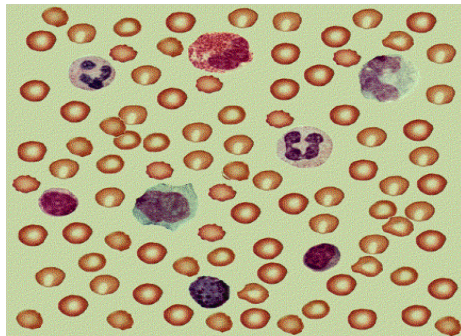
Migrasi sekaligus proses sirkulasi limfosit di dalam tubuh. Migrasi diawali a) migrasi sel induk pluripoten dari sumsum tulang ke organ limfoid primer, diferensiasi & distribusi limfosit ke organ limfoid sekunder; 2) resirkulasi limfosit dari peredaran darah ke limpa/kelenjar limfe & kembali ke darah; 3) distribusi sel efektor ke tempat-tempat tertentu untuk melakukan reaksi imunologik. Sel T bermigrasi ke kelenjar limfe perifer, sel B bermigrasi ke jaringan limfoid di sepanjang mukosa (*Mucosa Associated Lymphoid Tissue* = MALT).

Migrasi sel limfosit ini dikendalikan oleh reseptor pada endotel vaskular yang berinteraksi dengan reseptor spesifik pada limfosit. Status aktivasi limfosit & mediator yang berfungsi pada proses inflamasi & kemotaksis juga berperan dalam proses migrasi limfosit. Limfosit yang dalam keadaan istirahat bermigrasi dari organ limfoid ke organ limfoid lain sedangkan limfosit teraktivasi bergerak ke lokasi terjadinya inflamasi.

## *Sel Limfoid*

Sel limfoid tdd granulosit & agranulosit

**Granulosit:** netrofil, basofil dan neutrofil, disebut sebagai sel radang polimorf (polymorphonuclear/PMN). memiliki ciri berinti polimorf bergelambir, sitoplasma bergranula, di dalam granul terdapat enzim proteolitik (lisozim). tugas utama PMN dalam proses fagositosis antigen yang masuk ke dalam tubuh. Neutrofil berespon terhadap bakteri, eosinofil berespon terhadap protozoa parasit & reaksi alergi, basofil berespon terhadap berbagai jenis antigen.



Gambar sel radang polimorf (PMN), inti sel berbentk gelambir & sitoplasma bergranul.

Agranulosit tdd sel limfosit, dibedakan 2 yaitu sel Limfosit T (dihasilkan Timus) & sel Limfosit B (dihasilkan sumsum tulang, hati, organ limfoid lain).

- Sel limfosit B & T membawa molekul reseptor yang mengenali target spesifik
- Sel T mengenali target patogen, setelah antigen (fragmen kecil patogen) diproses & disampaikan pada reseptor "sendiri" yang disebut molekul major histocompatibility complex (MHC)
- 2 sub tipe utama sel T: Tc (sitotoksik/pembunuh) & Th (helper/pembantu)

Tc hanya mengenali antigen dirangkaikan pada molekul kelas I MHC

Th hanya mengenali antigen dirangkaikan pada molekul kelas II MHC

- sub tipe minor T  $\gamma\delta$  mengenali antigen yang tidak melekat pada reseptor MHC
- Reseptor antigen sel B adalah molekul antibodi pada permukaan sel B dan mengenali semua patogen tanpa perlu adanya proses antigen

- Tiap keturunan sel B memiliki antibodi berbeda, sehingga kumpulan reseptor antigen sel B yang lengkap melambangkan semua antibodi yang dapat diproduksi oleh tubuh.

## **Tc**

- Tc langsung menyerang sel lain yang membawa antigen asing atau abnormal di permukaan mereka
- Tc adalah sub-grup sel T yang membunuh sel terinfeksi virus
- Seperti sel B, tiap tipe sel T mengenali antigen yang berbeda
- Tc diaktivasi ketika reseptor sel Tc mereka melekat pada antigen spesifik pada kompleks dengan reseptor kelas I MHC dari sel lainnya
- Pengenalan MHC: kompleks antigen dibantu co-reseptor pada Tc yang disebut CD8
- Sel T lalu berkeliling pada tubuh untuk mencari sel yang reseptor I MHC mengangkat antigen

- Ketika sel T yang aktif menghubungi sel lainnya, sitotoksin dikeluarkan yang membentuk pori pada membran plasma sel, membiarkan ion, air dan toksin masuk. Hal ini menyebabkan sel mengalami apoptosis
- Tc penting untuk mencegah replikasi virus

## **Th**

- Th mengatur respon imun bawaan & adaptif & membantu menentukan tipe respon imun mana yang tubuh akan buat pada patogen khusus
- Tidak memiliki aktivitas sitotoksik, tidak membunuh sel yang terinfeksi atau membersihkan patogen secara langsung, tetapi mengontrol respon imun dengan mengarahkan sel lain untuk melakukan tugas tersebut
- Th mengekspresikan reseptor sel T yang mengenali antigen melilit pada molekul MHC kelas II
- Pengenalan MHC: kompleks antigen juga dibantu oleh reseptor CD4

- Th memiliki hubungan lebih lemah dg MHC-antigen, dibanding dengan Tc, shg banyak reseptor (sekitar 200-300) pada Th yang harus dililit pada MHC-antigen untuk mengaktifkan Th
- Aktivasi Th menyebabkan dikeluarkannya sitokin yang memperluas aktivitas banyak tipe sel
- Sinyal sitokin Th memperbesar fungsi mikrobisidal makrofag dan aktivitas sel T pembunuh
- Aktivasi Th menyebabkan molekul diekspresikan pada permukaan sel T, seperti CD154, yang menyediakan sinyal stimulasi ekstra, yang dibutuhkan untuk mengaktifkan sel B yang memproduksi antibodi.

### ***Sel Limfosit B***

- Sel B mengidentifikasi patogen ketika antibodi pada permukaan melekat pada antigen asing
- Antigen/antibodi kompleks ini diambil oleh sel B dan diproses oleh proteolisis ke peptid
- Sel B lalu menampilkan peptid antigenik pada permukaan molekul MHC kelas II. Kombinasi

MHC dan antigen menarik sel T pembantu yang cocok, yang melepas limfokin dan mengaktifkan sel B

- Sel B yang aktif lalu mulai membagi keturunannya (sel plasma) mengeluarkan jutaan kopi limfa yang mengenali antigen itu
- Antibodi tersebut diedarkan pada plasma darah dan limfa, melilit pada patogen menunjukkan antigen dan menandai mereka untuk dihancurkan oleh aktivasi komplemen atau untuk penghancuran oleh fagosit.
- Antibodi juga dapat menetralsir tantangan secara langsung dengan melilit toksin bakteri atau dengan mengganggu dengan reseptor yang digunakan virus dan bakteri untuk menginfeksi sel.

## **Sel Memori**

## Sel Memori

- Ketika sel B & sel T diaktivasi dan mulai bereplikasi, sebagian menjadi sel memori
- memori sel akan mengingat tiap patogen spesifik yang ditemui & melakukan respon kuat jika patogen terdeteksi kembali
- Memori imunologikal berbentuk memori jangka pendek pasif atau jangka panjang aktif.
- Memori pasif
- Imunitas pasif berjangka pendek, hilang dalam hari - bbrp bulan
- Selama kehamilan, antibodi IgG, dikirim ibu ke bayi langsung mell plasenta, sehingga bayi memiliki antibodi tinggi saat lahir, dg spesifisitas jangkauan antigen yang sama dengan ibunya
- ASI juga mengandung antibodi yang dikirim ke sistem pencernaan bayi & melindungi terhadap infeksi bakteri sampai bayi dapat mensintesis antibodinya sendiri

## **Memori aktif dan imunisasi**

Memori aktif jangka panjang didapat dg infeksi oleh aktivasi sel B & T. Imunitas aktif buatan, melalui vaksinasi atau imunisasi memperkenalkan antigen dari patogen untuk menstimulasi sistem imun dan mengembangkan imunitas spesifik melawan patogen tanpa menyebabkan penyakit yang berhubungan dengan patogen tersebut. Kebanyakan vaksin virus berasal dari selubung virus, vaksin bakteri dari komponen aselular mikroorganisme, termasuk komponen toksin vaksin bakteri ditambah adjuvan yang mengaktifkan sel yang memiliki antigen pada sistem imun bawaan & memaksimalkan imunogenitas.

## **Gangguan imunitas**

Sistem imun adalah struktur efektif yang menggabungkan spesifisitas dan adaptasi. Kegagalan pertahanan ada tiga kategori: defisiensi imun, autoimunitas, dan hipersensitivitas.

## **Defisiensi imun**

Defisiensi imun muncul ketika satu atau lebih komponen sistem imun tidak aktif. respon imun mulai berkurang pada usia sekitar 50 tahun obesitas, alkohol & narkoba mengakibatkan fungsi imun menjadi buruk. Kekurangan nutrisi menyebabkan defisiensi imun di negara berkembang. Diet kekurangan protein menyebabkan gangguan imunitas selular, aktivitas komplemen, fungsi fagosit, konsentrasi antibodi IgA dan produksi sitokin. Defisiensi nutrisi zinc, selenium, zat besi, tembaga, vitamin A, C, E, dan B6, dan asam folik (vitamin B9) juga mengurangi respon imun. *Chronic granulomatous disease*, penyakit akibat kemampuan fagosit untuk menghancurkan berkurang, contoh defisiensi imun dapatan. AIDS & beberapa tipe kanker menyebabkan defisiensi imun dapatan

## **Autoimunitas**

Respon imun terlalu aktif, gagal memusnahkan dengan tepat, & menyerang bagian dari tubuh

Sel T & antibodi bereaksi dg peptid sendiri.

## **Hipersensitivitas**

Respon imun yang merusak jaringan tubuh sendiri. terbagi 4 kelas (tipe I – IV) Tipe I reaksi segera/anafilaksis berhubungan dg alergi yang berperan IgE yang dikeluarkan dari sel mast dan basofil. Tipe II antibodi melilit pada antigen inang, menandai untuk penghancuran, disebut hipersensitivitas sitotoksik, yang berperan antibodi IgG dan IgM. Kompleks imun (antigen, protein komplemen, antibodi IgG & IgM) ada pada berbagai jaringan yang menjalankan reaksi hipersensitivitas tipe III. Tipe IV (selular) membutuhkan waktu 2-3 hari untuk berkembang, ikut serta dalam berbagai autoimun, penyakit infeksi, *contact dermatitis*. Yang berperan adalah sel T, monosit dan makrofag.

## **Regulasi fisiologis**

Hormon mengatur sensitivitas sistem imun.

hormon seks wanita menstimulasi respon imun adaptif & respon imun bawaan. penyakit autoimun lupus erythematosus menyerang pada saat pubertas. Sistem imun bertambah dengan tidur dan beristirahat, dan diganggu oleh kondisi stress. Diet dapat mempengaruhi sistem imun,

contohnya buah segar, sayur dan makanan yang kaya akan asam lemak dapat membantu perkembangan sistem imun yang sehat. Demikian dengan perkembangan prenatal dapat menyebabkan gangguan panjang imunitas. Pada pengobatan tradisional, beberapa obat-obatan tradisional dipercaya dapat menstimulasi imunitas, seperti ekinasea, likuoris, ginseng, astragalus, saga, garlic, sangitan, jamur shiitake dan lingzhi, dan hyssop, dan juga madu. Penelitian telah menunjukkan bahwa obat-obatan tradisional dapat menstimulasi sistem imun, walaupun cara aksi mereka kompleks dan sulit untuk dikarakterisasikan.

**Manipulasi oleh patogen Bakteri menembus perisai fisik dengan mengeluarkan enzim, memasukkan tuba palsu pada sel, menyediakan saluran langsung untuk protein untuk digunakan mematikan pertahanan.**

Replikasi intraselular (patogenesis intraselular) contoh virus, racun makanan, bakteri *Salmonella* & parasit eukariot yang menyebabkan malaria (*Plasmodium falciparum*) dan leishmaniasis (*Leishmania spp.*) *Mycobacterium tuberculosis*, hidup dalam kapsul protektif yang mencegah lisis oleh komplemen bakteri membentuk biofilm untuk melindungi

diri dari sistem imun seperti *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri menghasilkan protein permukaan yang melilit pada antibodi, mengubah Ab menjadi tidak efektif; contoh *Streptococcus* (protein G), *Staphylococcus aureus* (protein A).

Mekanisme virus untuk menghindari sistem imun adaptif merubah epitop yang tidak esensial (asam amino dan gula) pada permukaan penyerang, membiarkan epitop esensial disembunyikan

HIV memutasi protein pada sampul virus untuk masuk pada sel target. Perubahan tersebut pada antigen menyebabkan kegagalan vaksin yang diarahkan pada protein tersebut. Antigen tersembunyi dengan molekul inang adalah strategi lain untuk menghindari deteksi oleh sistem imun. Pada HIV, sampul yang menutupi virus dibentuk dari membran paling luar sel, virus bersembunyi membuat sistem imun kesulitan untuk mengidentifikasi sebagai benda asing.

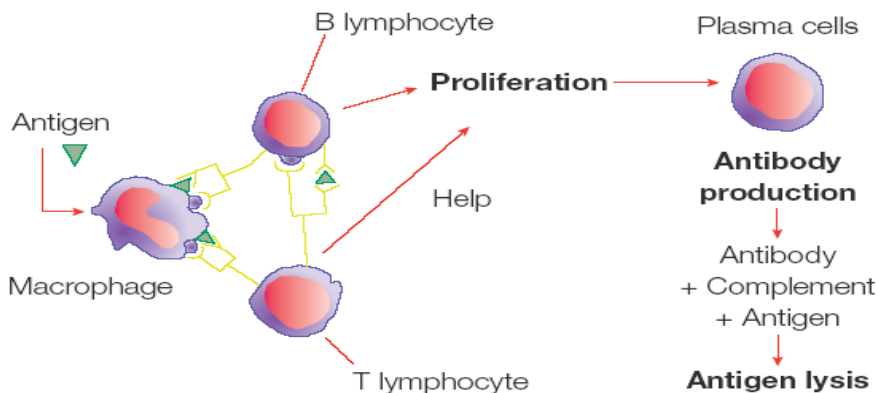
## **Sistem kekebalan spesifik pada ikan**

Organ dalam sistem kekebalan: sistem “Reticulo Endothelial”, limfosit, plasmosit, & fraksi serum protein tertentu. Sistem reticulo endothelial ikan tdd: bagian depan ginjal, timus, limpa, & hati (pada awal perkembangan), jaringan menyerupai limfoid pada usus ikan 2 sel limfosit, limfosit-B & limfosit-T Aktivitas sel-T pada ikan dalam sistem kekebalan seluler/imun perantara sel (cell mediated immunity). Sel-B berperan dalam produksi Ig melalui rangsangan antigen tertentu pada limpa & hati.

Tabel perkembangan beberapa organ yang berfungsi sebagai Sistem Reticulo Endothelial pada beberapa spesies ikan pada beberapa tingkatan suhu

Spesies ikan	Suhu (°C)	Perkembangan organ setelah menetas (hari)			
		timus	ginjal	limpa	Usus
<i>Barbus conchoniuis</i>	23	4	4	7	5
	22	3	6	8	-
<i>Cyprinus carpio</i>	suhu ruang	6-8	13-16	30-80	-
<i>Oreochromis niloticus</i>	24	9	14	-	14
<i>Clarias spp.</i>					

Ig pada organisme kelas tinggi : IgG, IgA, IgM, IgD dan IgE. Konsentrasi IgM pada organisme kelas tinggi pada mulanya tinggi, setelah kadarnya menurun mulai terdapat IgG & akhirnya kadar IgG makin tinggi & IgM menurun. Pada ikan Ig merupakan makroglobulin, tidak memiliki IgG. Padahal fungsi IgG anti viral, antibakterial & anti toksin. Ig ikan menyerupai IgM pada organisme kelas tinggi.

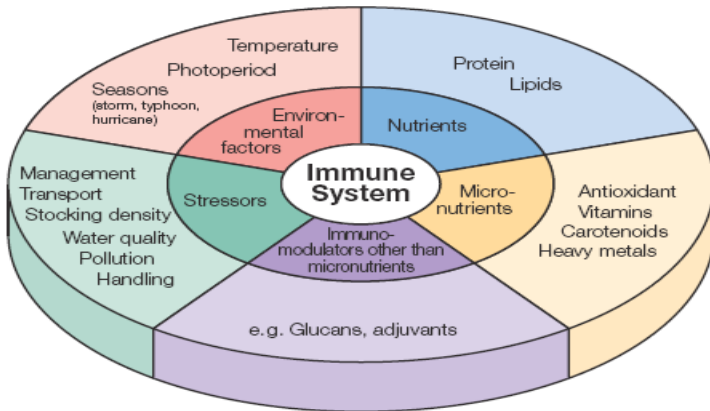


Mekansime sistem kekebalan spesifik: cellular co-operation dan produksi antibodi

(Sumber: Roitt *et al.*, 1989).

## Faktor-faktor yang berperan pada sistem kekebalan pada tubuh ikan

suhu, stress, keseimbangan nutrisi, polutan, mikro-nutrien, immunomodulator



(Sumber: Roitt *et al.*, 1989).

### Suhu

Ikan hewan poikilotermik. proses fisiologi dalam tubuh dipengaruhi oleh suhu lingkungannya. Mekanisme pertahanan tubuh bergantung pada suhu (temperature-

dependent), berkembang cepat pada suhu lingkungan optimal. Suhu rendah faktor pembatas dalam proses metabolisme & induksi kekebalan tubuh. Suhu tinggi juga menekan fungsi kekebalan tubuh (immunosuppressive).

Reaksi antigen-antibodi dimulai dengan cellular co-operation antara makrofag dg limfosit dipengaruhi oleh suhu (temperature-sensitive). Fungsi normal limfosit ikan tergantung pada adaptasi homoviscous lipid membran sel. Komposisi asam lemak & suhu lingkungan merupakan faktor berpengaruh terhadap “fluidity” & permeabilitas membran sel, terhadap aktivitas antara membrane-associated receptors dg enzim. Respon kekebalan tubuh (CMI & humoral) ikan relatif lambat pada suhu rendah.

### **Kondisi stress**

Stress disebabkan faktor biologis, kimiawi & fisik. Imunodepresi sebagai faktor sekunder stress

Proses produksi ikan dapat mengakibatkan stress: transportasi, kepadatan, penanganan/sorting, kualitas air buruk. Apabila stress, ikan mensekresi hormon stress (corticosteroids) yang bersifat immunosuppressive dalam

jumlah tinggi, Respon stress akan diikuti dg penurunan kadar limfosit dalam darah & organ-organ limfoid.

### **Stres alarms pada ikan :**

- (1) Peningkatan gula darah akibat sekresi hormon dari kelenjar adrenalin. Persediaan gula, seperti glikogen dalam hati dimetabolisme sebagai persediaan energi untuk emergensi.
- (2) Osmoregulasi kacau akibat perubahan metabolisme mineral. Ikan air tawar cenderung mengabsorpsi air dari lingkungan (*over-hydrate*), ikan air laut cenderung kehilangan air dari dalam tubuh (*dehydrate*). Kondisi ini perlu energi ekstra untuk memelihara keseimbangan osmoregulasi.
- (3) Pernafasan meningkat, tensi darah meningkat, persediaan eritrosit direlease ke sistem resirkulasi
- (4) Respon inflamasi ditekan oleh hormon dari kelenjar adrenalin

- (5) Stress mengakibatkan perubahan kimiawi pada mukus yang berakibat menurunnya efektivitas pertahanan kimiawi terhadap infeksi patogen
- (6) Handling stress menyebabkan mukus terlepas dari tubuh ikan, menurunkan kemampuan proteksi kimiawi, menurunkan potensi pelumasan sehingga ikan perlu energi lebih banyak untuk berenang, dan mengacaukan pertahanan fisik terhadap infeksi patogen
- (7) Chemical stress (pengobatan penyakit ikan) sering merusak mukus yang berakibat hilangnya pertahanan kimiawi mukus, menurunnya fungsi osmoregulasi, fungsi pelumasan, dan pertahanan fisik mukus.

### **Polutan dan Logam Berat**

Logam berat Hg, Cd, Cu, Zn, Ni, Pb, Cr, Al dan Co, sifat racunnya dapat meningkat apabila komposisi ion-ion dalam air terdiri dari jenis-jenis ion yang sinergetik & melemah apabila kandungan ion-ion tersebut bersifat antagonistik. pH air berpengaruh pada tingkat kelarutan ion-ion logam, aktivitas ion logam meningkat pada pH air

rendah. Hg meracuni sistem syaraf ikan, Cd bersifat cytotoksikan terhadap jaringan insang ikan.

Kontaminasi ringan logam berat di perairan akan dideposit oleh induk dikonsentrasikan dalam minyak yang tersimpan dalam telurnya, akan mematikan telur-telur tersebut pada saat berkembang sebelum menjadi larva limbah internal dari aktivitas budidaya seperti CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S menjadi pemicu stress sampai kematian ikan.

## **Keseimbangan nutrisi**

### **Mikro nutrien**

Anti oksidan vitamin C, E ( $\alpha$ -tocopherol), imunostimulan Glukan, Lipopolisakarida meningkatkan daya tahan tubuh ikan terutama sistem pertahanan non-spesifik (cellular immunity) Sebagai immunomodulatory terhadap sistem kekebalan tubuh ikan apabila diberikan pada dosis tepat dan berkelanjutan. Kandungan karotin dalam diet pakan ikan menunjukkan pengaruh yang baik terhadap status kesehatan ikan.

## **Immunomodulators**

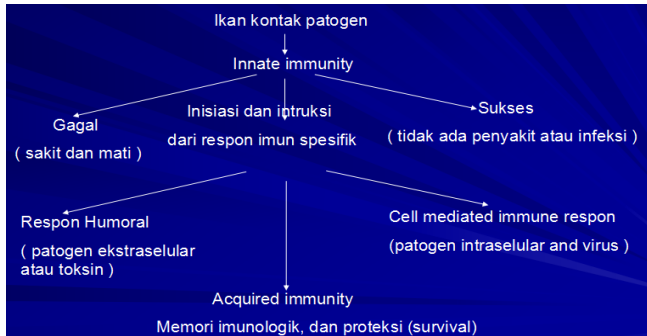
Ajuvant apabila dicampur antigen untuk vaksinasi akan meningkatkan efektivitas vaksin (meningkatkan level respon kekebalan spesifik) & melipatgandakan produksi sel-sel fungsional yang berperan dalam sistem kekebalan non-spesifik ajuvant memperlambat proses pelepasan antigen, sehingga akan kontak lebih lama dg makrofag & limfosit; sehingga meningkatkan kualitas respon kekebalan spesifik (antibodi) yang dihasilkannya.

## **FAKTOR-FAKTOR LINGKUNGAN TERHADAP KESEHATAN IKAN: ASPEK IMUNOLOGIS**

Respon imun pada ikan :

- Budidaya finfish & shellfish 25 % dari produksi hewan akuatik di dunia
- Semakin intensif sistem budidaya menyebabkan peningkatan insiden terjadinya penyakit.
- Kualitas air yang buruk mengakibatkan sistem imunitas menurun
- Ikan adalah vertebrata primitif (dibandingkan manusia), tetapi telah mengembangkan sistem imun untuk proteksi.
- Studi tentang imunitas ikan dan resistensi penyakit relatif masih muda/awal dibandingkan manusia.

Respon dari ikan setelah kontak dengan patogen



## Non-specific immune cells

### Monosit dan makrofag jaringan

- sel-sel penting dalam respon imun
- sel-sel utama terlibat dalam fagositosis dan pertama “killing“ patogen pada pengenalan pertama dari sekuen-sekuen infeksi.

### Neutrofil

- sel-sel utama pada fase awal terjadinya inflamasi, neutrofil menghasilkan cytokine untuk merekrut sel-sel imun untuk menghancurkan invaders.
- neutrofil adalah fagositik, membunuh bakteri dengan mekanisme ekstraselular. Natural killer cells
- menggunakan receptor binding untuk mentarget sel dan melisisnya.
- penting pada imunitas terhadap virus dan parasit

## 2. Phagocytosis : most primitive defence mechanisms.

Tahapan dalam phagocytosis :

- Movement by chemotaxis (directional) atau chemokines ( non directional ) dari pagositosis dalam respon terhadap benda asing.
- Attachment via lectins
- Engulfment of foreign agent (simple movement into phagocytes)
- Killing and digestion
- oxygen – independent mechanism : low pH, lysozyme, lactoferin, enzyme proteolytic / hydrolitic
- oxygen – dependent mechanism.

ROI: superoksida anion, hidrogen peroksida

## 3. Non specific humoral molecules.

<u>Molecule</u>	<u>Composition</u>	<u>Mode of action</u>
Lectine	Spesific sugar	Recognition, precipitation,
Lytic enzyme	Binding protein	Aglutination
Transferin/Lactoferin	Catalytic protein, lysozime Glycoprotein	Hemolytic and antibacterial actifity
C – reactive protein	Acute–phase protein	Activation of complement
Interferon	Protein	Resistance to viral infection

Faktor-faktor yang mempengaruhi resistensi terhadap penyakit dan respon imun pada ikan

1. Genetik individu memiliki perbedaan dalam resistensi alami dan imunitas alami / turunan
2. Lingkungan suhu, musim, photoperiod Stres kualitas air, polusi, kepadatan, handling & transportasi, breeding cycle
3. Nutrition kualitas dan kuantitas pakan, ketersediaan nutrien, penggunaan imunostimulan
4. Ikan Umur, spesies atau strain, individu
5. Patoge Level infeksi (dosis), tipe (parasit, bakteri, virus), virulensi.

#### Immunoassay

Cara mendeteksi perubahan mekanisme proteksi ikan terhadap imunomodulasi diturunkan dari apa yang telah digunakan dalam diagnosa penyakit ikan dan program imunisasi.

**Table 1**  
Hematological, Nonspecific Defensive Mechanism, and Specific Immune Response Assays

*Hematological and physiological assays—blood samples*

- Hematoerit: Percent of red blood cell pack
- Leukoerit: Percent of white blood cell pack
- Cell counts and differentials: Numbers of cells and types
- Lysozyme levels: Enzyme level in blood
- Serum immunoglobulin level: Specific and nonspecific antibody
- Serum protein level: Total protein in serum

*Nonspecific defensive mechanism or specific immune response assays*  
(These assays can be used for either response)

- Phagocytosis: Percents and indexes; engulfment by phagocytic cells
- Rosette-forming cells: Adherence of particles around lymphocytes
- Glass or plastic adherence: Stickiness of phagocytic cells
- Pinocytosis: Engulfment of fluids by phagocytic cells
- Neutrophil activation:
  - Nitroblue tetrazolium dye reduction by oxidative burst
  - Chemiluminescence: light detection from oxidative burst
- Blastogenesis: Mitosis of cells, usually lymphocytes; radioimmunoassay

*Specific immune response assays*

- Scale rejection: Transplantation indicator
- Delayed hypersensitivity: Allergenic reactions
- Typan blue: Killer cell activity
- Chromium release: Killer cell activity
- Melanomacrophage centers: Antigen processing cells
- Antigen accumulation: Concentration in spleen or kidney areas
- Cell aggregates: Increase in numbers of melanomacrophage cells
- Passive hemolytic plaque assay (Jerne assay): Antibody-producing cells
- Assays measuring serum antibody levels

*Agglutination: Clumping of antigen particulates; sometimes antigen-labeled sheep red blood cells (hemagglutination)*

- Precipitin (Ouchterlony gel): Measures soluble antigens in gels
- Immunoelectrophoresis: For defining blood or antigenic components

*Counterimmunoelectrophoresis*

- ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay
- Fluorescent antibody assays: Indirect and direct indicators
- Neutralization: Usually with live viral particles
- Complement fixation: Involves complex serum components as indicators; usually for lysis of blood cells.

*Challenge with pathogen: Compare mortalities; determination of LD50s or relative percent survivals among test and control groups of fish*

## Immunosuppression

Ikan yang terekspose bahan kimia di lingkungan mempunyai potensi imunomodulasi. Beberapa bahan yang mempengaruhi kesehatan ikan berasal dari sumber alami,

seperti PH rendah pada beberapa perairan, atau dari aktivitas manusia di sekitarnya.

Beberapa polutan yang mempengaruhi kesehatan ikan adalah metal, aromatic hydrocarbon, pesticides, and drugs.

## Metal

**Table II**  
Nonspecific Defense Mechanisms and Specific Immune Response Parameters of Fish Affected by the Presence of Metals

Metal	Parameter	Fish species	Reference
Aluminum	Reduced chemiluminescence	Rainbow trout	Elsasser <i>et al.</i> , 1986
Arsenic	Phagocytosis elevated or lowered	Rainbow trout	Thuvander <i>et al.</i> , 1987
Cadmium	Elevated serum antibody	Rainbow trout	Thuvander, 1989
	Lymphocyte number and mitogenic response reduced	Goldfish	Murad and Houston, 1988
	Chemiluminescence reduced	Rainbow trout	Elsasser <i>et al.</i> , 1986
	Serum antibody heightened	Cunners	Robohm, 1986
	Lowered serum antibody	Striped bass	Robohm, 1986
Chromium	Serum antibody reduced	Brown trout, carp	O'Neill, 1981a
Copper	Chemiluminescence reduced	Rainbow trout	Elsasser <i>et al.</i> , 1986
	Serum antibody reduced	Brown trout	O'Neill, 1981a
	Antibody-producing cells reduced	Rainbow trout	Anderson <i>et al.</i> , 1989
	Susceptibility to <i>Vibrio anguillarum</i> increased	Eel	Rodsather <i>et al.</i> , 1977
	Susceptibility to IHNV increased	Rainbow trout	Hetrick <i>et al.</i> , 1979
Lead	Serum antibody reduced	Brown trout	O'Neill, 1981b
Mercury	Lymphocyte numbers reduced	Barb	Gill and Pant, 1985
	Susceptibility to IPNV increased	Blue gourami	Roales and Perlmutter, 1977
Nickel	Serum antibody reduced	Brown trout	O'Neill, 1981a
Zinc	Serum antibody reduced	Brown trout	O'Neill, 1981a

## Pesticides

**Table IV**  
Nonspecific Defense Mechanisms and Specific Immune Response Parameters of Fish Affected by Pesticides

Compound	Parameter	Fish species	Reference
Endrin	Phagocytic, antibody-producing cell activities reduced	Rainbow trout	Bennett and Wolke, 1987a
Malathion	Lymphocyte number reduced	Channel catfish	Areechon and Plumb, 1990
Methyl bromide	Thymic necrosis	Medaka	Wester <i>et al.</i> , 1988
Trichlorphon	No effect	Carp	Cossarini-Dunier <i>et al.</i> , 1990
	Phagocytic, neutrophilic, lysozyme activity reduced	Carp	Siwicki <i>et al.</i> , 1990
DDT	Antibody-producing cell, serum antibody reduced	Goldfish	Sharma and Zeeman, 1980
Lindane	No effect	Carp	Cossarini-Dunier <i>et al.</i> , 1987
Atrazine	No effect	Carp	Cossarini-Dunier <i>et al.</i> , 1987
Bayluscide	Serum African antibody reduced	Catfish	Faisal <i>et al.</i> , 1988
Tributyltin	Chemiluminescence reduced	Oyster toadfish, hogchoker, croaker	Wishkovsky <i>et al.</i> , 1989
	Chemiluminescence	Toadfish	Rice and Weeks, 1990

## Drugs: Chemicals and antibiotics used in treating diseases

**Table V**  
Nonspecific Defense Mechanisms and Specific Immune Response Assays in Fish Affected by the Antibiotics, Drugs, and Other Chemicals

Compound	Parameter	Fish species	Reference
Oxytetracycline	Mitogenic response reduced	Carp	Gondel and Boesten, 1982
	Antibody-producing cells reduced	Rainbow trout	van Muiswinkel <i>et al.</i> , 1985
	Antibody-producing cells reduced	Rainbow trout	Siwicki <i>et al.</i> , 1989
Aflatoxin B-1	B-cell memory loss	Rainbow trout	Arkoosh and Kaattari, 1987
Cortisol/ Kenalog-40	Antibody-producing cells reduced	Rainbow trout	Anderson <i>et al.</i> , 1982
Hydrocortisone	Phagocytic activity reduced	Striped bass	Stave and Roberson, 1985

## Aromatic Hydrocarbons, including Polychloride Biphenyls

**Table III**  
Nonspecific Defense Mechanism and Specific Immune Response Assays in Fish Affected by Aromatic Hydrocarbons

Compound	Parameter	Fish species	Reference
Phenol	Antibody-producing cells reduced	Rainbow trout	Anderson <i>et al.</i> , 1984
Benzidine	Nonspecific agglutination rise		Middlebrooks and Meador, 1984
Polychlorinated biphenyls (PCB)			
Aroclor 1254	No effect	Rainbow trout	Cleland <i>et al.</i> , 1988
Aroclor 1254	Antibody-producing cells reduced	Coho salmon	Cleland <i>et al.</i> , 1989
Aroclor 1254	Serum antibody slightly reduced	Summer flounder	Stolen, 1985
Aroclor 1232	Susceptibility to disease increased	Channel catfish	Jones <i>et al.</i> , 1979
Aroclor 1254/1260	Susceptibility to disease increased	Rainbow trout	Mayer and Mayer, 1985
Chlorinated dioxin (TCDD)	Mitogenic response partially suppressed	Rainbow trout	Spitsbergen <i>et al.</i> , 1986
	Susceptibility to IHNV	Rainbow trout	Spitsbergen <i>et al.</i> , 1988
Polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs)	Macrophage activity reduced	Spot	Weeks and Warinner, 1986
	Macrophage activity reduced	Hogchoker	Weeks and Warinner, 1986
	Melanomacrophage numbers reduced	Flounder	Payne and Fancey, 1989

## Immunostimulation

**Table VI**  
Immunostimulants and Adjuvants and Their Mode of Action<sup>a</sup>

---

• Complete Freund's Adjuvant (CFA): Antigen reservoir, T-lymphocyte stimulator
• Incomplete Freund's Adjuvant (IFA): Antigen Reservoir
• Muramyl dipeptide: T-lymphocyte stimulator
• Levamisole: T-lymphocyte stimulator
• FK-565 (streptomyces olivaceogriseus derivative): T-lymphocyte stimulator
• Glucans: Macrophage activator
• ISK (fish and product derivative): Unknown
• Quaternary ammonium compounds: Unknown
• Chitin and chitosan: Unknown, maybe similar to glucans
• Ete (tunicate derivative): Phagocytosis
• Vitamin C (ascorbic acid): Antioxidant, multiple cell stimulator
• Vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol): Antioxidant, B- and T-lymphocyte stimulator
• Bacterial endotoxins: B-lymphocyte stimulators

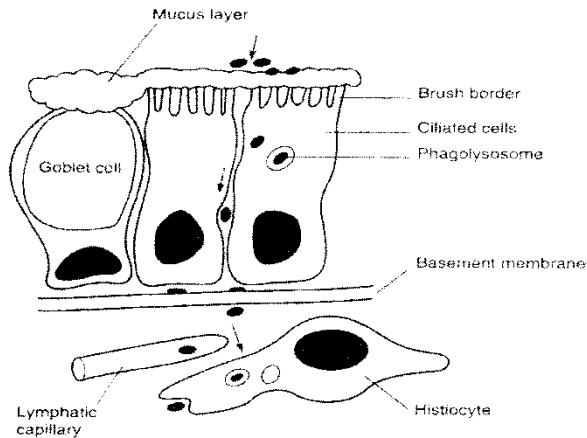
---

<sup>a</sup> These compounds affect the nonspecific defensive mechanisms and specific immune response of fish. In many cases the mode of action is of the substance in fish is uncertain or unknown.

## IMMUNOMODULATION: FAKTOR ENDOGENEUS

### A. FAGOSIT

- Bagian terpenting dari pertahanan tubuh inang yang bekerja tanpa menunggu melawan mikroba setelah permukaan epitel dilewati.
  
- **Dua tipe sel fagosit:**
  - a) Makrofaga
  - b) Polymorphonuclear leucocyte



**Fig. 3.1** Microbial invasion across an epithelial surface.

- Polimorphannuclear diproduksi di tulang belakang dan secara kontinyu dikeluarkan ke darah ( $3 \times 10^{10}$  polymorphs dalam darah).
- Hidup hanya beberapa saat (hari) meskipun tidak ada imflamasi ( $10^{11}$  polymorphs lenyap dari darah).
- Kehilangan harian seimbang dengan masuk ke darah dari tulang belakang ( $3 \times 10^{12}$  polymorphs).

## **B. MONOSIT**

- Monosit adalah prekursor dari makrofaga

- Berasal dari stem sel di tulang belakang, meninggalkan sirkulasi dan memulai tugas fagosit di jaringan dengan mengubah menjadi makrofaga.
- Makrofaga tersebar di jaringan tubuh untuk menghadang invasi patogen.

### **C. LIMFOSIT**

- Ketika limfosit bertemu dengan antigen secara alamiah atau diberikan sebelumnya (vaksinasi) mereka akan mengalami perubahan.
- Sel B (Bursa) dirangsang untuk berdeferensiasi menjadi penghasil antibodi.
- Sel T (Thymus) berdiferensiasi menjadi limfoblast, membelah, dan melepaskan limfokin dalam membawa *cell mediated immune response*.

### **D. BIOLOGI SEL FAGOSITOSIS**

- Sebelum fagositosis terjadi harus ada preliminari attachment (non spesifik) dari obyek ke permukaan sel fagosit, dilanjutkan dengan penempelan spesifik yang kuat.

- Attachment dan ingestion partikel (mikroba) difasilitasi **opsonin** yang kemudian bertindak sebagai ligand, ex. IgG (FcR), komplemen CR1.

**OPSONIN** : makromolekul yang diikat permukaan mikroba dan dikenal reseptor permukaan neutrofil/makrofaga yang meningkatkan efisiensi fagositosis mikroba.

- Contoh reseptor pada makrofaga yang terkarakteristik dengan baik adalah:
  1. CR3 (complement reseptor 3) yang mengikat C3bi pada opsonin komplemen target.
  2. Fc $\gamma$  Rs (Fc gamma receptor) yang mengikat antibody coated target.
- **Fagositosis type I** diperantarai oleh Fc $\gamma$  menghasilkan pseudoextension dan membran mengerut dilanjutkan dengan respiratory burst dan produksi signal pro inflamasi.
- **Fagositosis type II** diperantarai CR3 membutuhkan signal tambahan, menghasilkan organisme

tenggelam ke dalam sel dan tidak menghasilkan respiratory burst.

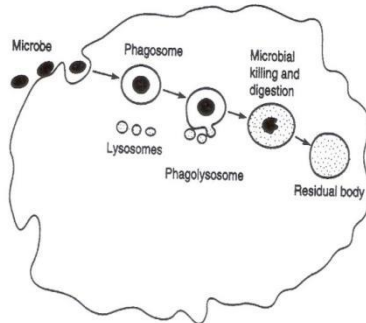


Fig. 4.2 Diagram to show phagocytosis and intracellular digestion.

## **FAGOSITOSIS OLEH POLYMORPHONUCLEAR**

Polimorfonuklear: neutrofil, basofil, dan eosinofil.

- Neutrofil : 70% total leukosit darah
- Eosinofil : 1%
- Basofil : 0,5%

Diawali dengan pelingkupan mikroba oleh membran vakuola dalam sitoplasma sel fagosit membentuk fagosom (vakuola fagositik). Selanjutnya menyatu dengan lisosom membentuk fagolisosom dan mengeluarkan isinya (ex. Enzyme) ke dalam vakuola tersebut yang mengawali intracellular killing dan digestion mikroba.

- Digestion diawali dengan komponen dinding sel selanjutnya isi dari sel bakteri tersebut.
- Killing bacteria atau mikroba lain oleh polimorf merupakan peristiwa kompleks melibatkan banyak komponen yang belum diketahui.

#### 1) **Oxygen Dependent Killing Mechanism.**

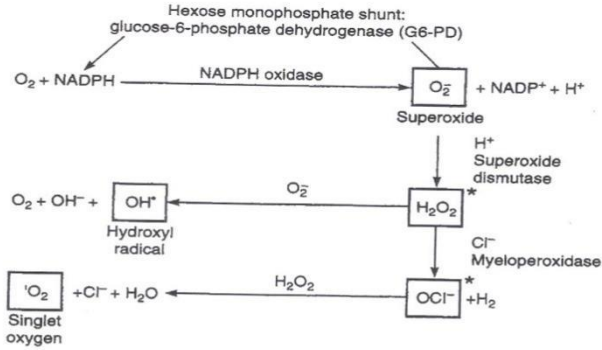
- Aktivitas Respiratory yang ada pada fagositosis diperlukan untuk membunuh mikroba.
- Setelah fagositosis terjadi NADPH oksidase diaktifkan. Oksigen diperlukan untuk menghasilkan superoksida ( $O_2^-$ )
- Superoksida selanjutnya dismutase membentuk  $H_2O_2$  (hidrogen peroksida)
- $H_2O_2$  membentuk hidroksil  $OH^-$  (hidroksil radikal),

- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dengan perantara myeloperoksidase membentuk hypochlorite (OCl-) yang tidak hanya merusak dinding sel bakteri
- OCl- bereaksi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bereaksi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> membentuk singlet oksigen yang bersifat anti bakterial.

## 2) Oxygen Independent Killing Mechanism

- pH rendah; segera setelah fagositosis pH turun 3.5, efek antibacterial
- Granula:
  - laktoferin
  - lisosim
  - cationic protein
  - Bactericidal increasing protein, mengikat LPS pada bakteri Gram negatif, menghancurkan dinding sel dan menghambat pertumbuhan.

OXYGEN-DEPENDENT



OXYGEN INDEPENDENT

- \* Acid pH
- \* Lysozyme—dissolves the cell wall of certain Gram-positive bacteria
- Cationic proteins\*—bactericidal activity
- Lactoferrin
- Vitamin B<sub>12</sub>-binding protein } Bacteriostatic activity?
- Acid hydrolases—post-mortem digestion of microorganisms?

Fig. 4.3 Antimicrobial mechanisms in the neutrophil polymorph (\* = probably important in killing).

## FAGOSITOSIS DALAM MAKROFAGA

Proses adsorpsi, ingesti, dan digesti dari mikroba dalam makrofaga umumnya sama seperti pada sel polimorf, tidak ada perbedaan-perbedaan penting.

1. Makrofaga tidak mempunyai kemampuan yang tinggi bergerak antar jaringan seperti halnya sel

polimorf. Makrofaga → kemotaksis →  
menyebabkan perbedaan distribusi dalam jaringan.

2. Makrofaga mempunyai perbedaan dalam enzim lisosomal.

- makrofaga tidak mempunyai cationik protein tetapi defensin peptida, sehingga berbeda kemampuannya dalam ingesi mikroba.

3. Umur makrofaga lebih lama (months, in man) sedangkan polimorf (days, in man).

- Polimorf, ketika lisosom telah mengeluarkan isi granula ke dalam fagosom, akan diperbaharui lagi.

- Makrofaga, menyisakan dan membentuk sejumlah lisosom baru.

## **MICROBIAL STRATEGY IN RELATION TO PHAGOCYTOCYS**

- 1. Penghambatan kemotaksis atau mobilisasi sel fagosit**

- Penghambatan kemotaksis → inang tidak mampu memfokuskan polimorf atau makrofaga ke tempat sebenarnya dari infeksi.
- Beberapa toksin bakteri menghambat pergerakan polimorf atau makrofaga:

Streptococcus → streptolysin → menekan kemotaksis

Clostridium → O toksin → menghambat kemotaksis

## **2. Penghambatan adsorpsi mikroba ke permukaan sel fagosit**

Beberapa virus tidak dapat menyerang, sehingga tidak dapat menginfeksi sel, tanpa spesifitas reseptor ada pada permukaan sel.

## **3. Penghambatan fagositosis-opsonin**

- Resistensi bakteri terhadap fagositosis banyak disebabkan oleh komponen dinding sel bakteri, dan terkadang oleh kapsul yang menyelimuti dinding sel.

**ex:**

- *Streptococcus* → M protein pada permukaan dan pili, mempunyai kemampuan untuk hidup dan tumbuh, menghindari “up take” oleh sel fagosit. M protein → faktor virulensi
- Kapsul polisakarida dari pneumococcus → berkait dengan resistensi terhadap fagositosis dan virulensi. 10 encapsulated virulent bacteria membunuh tikus dengan injeksi 10.000 bakteri jika kapsul dilepaskan dengan hyaluronidase
- *Salmonella typhi*, mempunyai K antigen (acid polysaccharida) yang membuat fagositosis susah.
- 

#### **4. Penghambatan Fusi lisosom dengan vakuola fagositik**

*Mycobacterium* → menghambat fusi lisosom → mekanisme

#### **5. Lari dari phagosome**

Sesaat setelah tertangkap oleh phagosome, mikroba masih bisa menghindar dengan lari pada fase awal phagosome dan masuk ke sitoplasma.

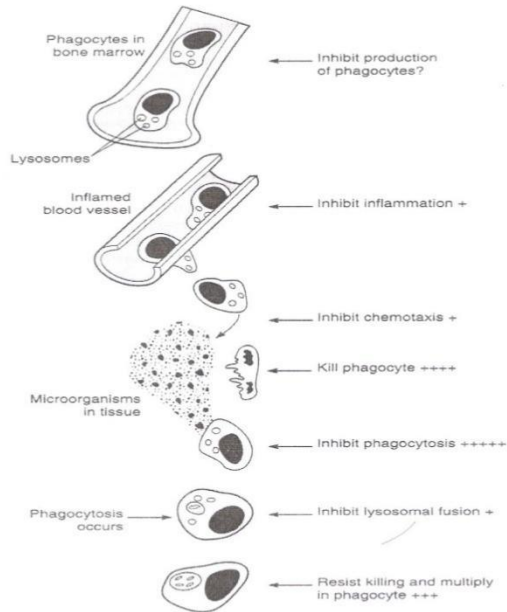
Ex: *Shigella* dapat melarikan diri dari vakuola dan menyebar ke adjacent cells → aktivitas listeriolysin

## **6. Resistance to killing and digestion dalam phagolysosome**

Mikroba yang sukses menginfeksi tahan terhadap “killing” dan “digestion” dalam vakuola fagositik.

Beberapa bakteri menunjukkan resistensi terhadap killing dan digestion dalam phagolysosome:

- coli → K antigen
- Salmonella → memproduksi bactericidal increasing protein
- Mycobacteria → komponen dinding sel.



**Fig. 4.6** Antiphagocytic strategies available to microorganisms. The extent to which strategies are actually used by microorganisms are indicated by pluses.

## IMUNISASI IKAN

### A. Komponen Sistem Imun Non Spesifik

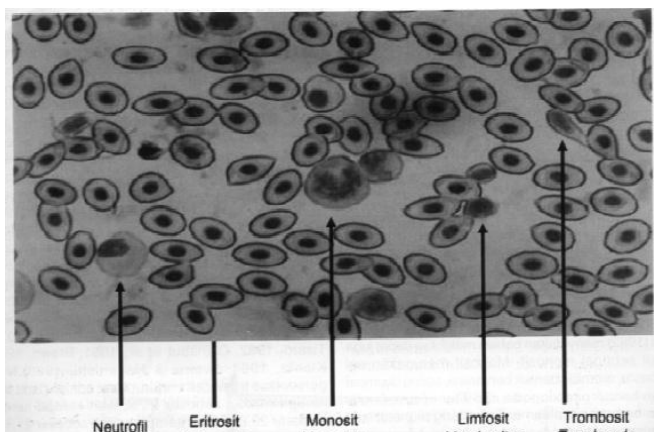
Sistem imun non-spesifik ikan antara lain terdiri dari penghalang fisik terhadap infeksi, pertahanan humoral dan

sel-sel fagositik (leukosit granulosit dan agranulosit). Ikan teleostei memiliki sejumlah penghalang fisik terhadap infeksi antara lain kulit dan mukus. Mukus memiliki kemampuan menghambat kolonisasi mikroorganisma pada kulit, insang dan mukosa. Mukus ikan mengandung imunoglobulin (IgM) alami, bukan sebagai respon dari pemaparan terhadap antigen. Imunoglobulin (antibodi) tersebut dapat menghancurkan patogen yang menginvasi (Irianto, 2005). Adapun sisik dan kulit merupakan pelindung fisik yang melindungi ikan dari kemungkinan luka dan sangat penting perannya dalam mengendalikan osmolaritas tubuh. Kerusakan sisik atau kulit akan mempermudah patogen menginfeksi inang. Mukus selain sebagai pelindung fisik juga pelindung kimiawi karena mengandung lisozim, komplemen, protein-protein komplemen dan protease mirip tripsin yang dapat merusak sel-sel bakteri Gram negatif. Lisozim dapat menghancurkan dinding sel bakteri (peptidoglikan), komplemen akan menyerang pada lapisan ganda lipid (lipid bilayer) pada dinding sel, protein reaktif-C mengaktivasi komplemen, sedangkan anti protease akan menetralisasi eksotoksin.

Meskipun memiliki perlindungan fisik, antigen dapat masuk melalui permukaan epitel yang rusak, insang (terutama sesudah terjadinya stress osmotik), organ linea lateralis dan saluran pencernaan. Jika patogen telah masuk ke dalam tubuh, maka beragam respon pertahanan non-spesifik dan adaptif akan menghadangnya, respon tersebut berasal dari lisozim, komplemen, transferin, lektin, tripsin, (di dalam lapisan sel-sel epitel kulit, insang dan intestinum), makroglobulin, precipitin, serum amyloid A (SAA), dan serum amyloid P (SAP) (Ellis,1999).

Pertahanan non-spesifik utama lainnya yaitu berupa sel-sel fagositik, yang utamanya terdiri dari monosit (prekursor-prekursor makrofag), makrofag dan granulosit (leukosit granular : neutrofil, basofil dan eosinofil) (Robersen,1999). Monosit mengalami sirkulasi, adapun makrofag terikat pada jaringan. Aktivasinya antara lain yaitu opsonisasi antigen. Untuk menjalankan aktivasinya, monosit memerlukan hadirnya reseptor Fc untuk mengikat antibodi. Granulosit sendiri jika pada mamalia tersusun atas neutrofil, eosinofil dan basofil. Pada ikan teleostei, meskipun komponen granulosit sama tetapi asidofil dan basofil jumlahnya sangat rendah dan tidak mengalami sirkulasi. Jumlah neutrofil,

basofil dan asidofil sangat bervariasi diantara spesies ikan. Pada ikan salmonid, neutrofil predominan, sedangkan asidofil dan basofil jumlahnya sangat rendah atau bahkan tidak ada. Pada ikan cyprinus carpio hanya neutrofil saja yang jumlahnya melimpah yaitu sekitar 8% sedangkan basofil dan heterofil hanya 1% saja. Adapun pada plaice (*Pleuronectes platessa*) dan *Anguilla* spp., hanya dijumpai neutrofil saja (Irianto, 2005).



Gambar 1. Morfologi sel-sel fagosit

Sel-sel fagosit akan mengenali dan menelan partikel-partikel antigenik, termasuk bakteri dan sel-sel inang yang rusak melalui tiga tahapan proses yaitu pelekatan, fagositosis

dan pencernaan. Pelekatan pada permukaan sel bersifat selektif dan sel-sel inang yang sehat tidak akan ditelan karena adanya mekanisme pengecualian tipe I MHC (MHC Type I exclusion mechanism) meskipun identifikasi gen-gen MHC terbatas pada beberapa spesies saja.

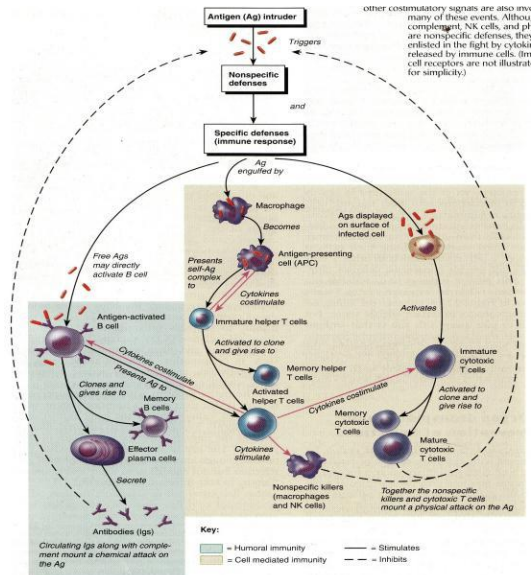
Inflamasi merupakan suatu respon seluler non-spesifik terhadap invasi patogen atau toksin. Inflamasi ditandai dengan rasa sakit, pembengkakan, kulit memerah (peradangan), suhu tubuh naik, atau kehilangan fungsi-fungsi fisiologis. Hal tersebut merupakan respon protektif awal tubuh dalam upaya menghalangi patogen dan menghancurkannya (Galindo dan Hosokawa, 2004).

Ikan hanya mensintesis satu kelas imunoglobulin (IgM). Pada ikan teleostei IgM serum bersifat tetramerik dan pada ikan-ikan bertulang rawan bersifat penta merik. IgM lebih efisien dibandingkan dengan IgG dalam aktivasi komplemen, opsonisasi, netralisasi virus dan aglutinasi. IgM dijumpai pada mukus ikan dan merupakan imunitas yang dimediasi oleh sel. Sel-sel sitotoksik T membantu membunuh sel-sel yang terinfeksi viral serta sel-sel abnormal (Lichtman dan Abul, 2005).

## **B. Mekanisme Sistem Kekebalan Spesifik**

Antibody akan disintesis ketika ada respon dari luar berupa antigen yang kemudian dipresentasikan oleh sel-sel yang bertugas mempresentasikan antigen (Antigen presenting cells, APCs), antara lain makrofag, sel-sel dendrit dan lymphocyte B (sel B). APCs akan mempresentasikan epitop (determinan antigen) kepada sel T helper melalui molekul MHC (Major histocompatibility complex) kelas II. Sel T akan menerima epitop-epitop tersebut menggunakan reseptor yang disebut TCR (T- Cell receptor). Setelah menerima kiriman epitop dari APCs, sel T helper kemudian meresponnya dengan mensekresi sitokin. Sitokin (seperti interleukin) tersebut selanjutnya diterima oleh sel B dan sel B akan merespon signal yang diterima dengan mengadakan proliferasi menjadi sel B memori dan sel-sel plasma. Sel B memori akan mengingat epitop yang pernah diterima dengan membentuk reseptor khusus yang secara spesifik mengenali epitop tersebut sehingga ketika epitop yang sama masuk ke dalam tubuh, dengan cepat akan dikenali oleh sel B dan dengan segera akan direspon. Sedangkan sel-sel plasma bertanggung jawab terhadap sintesis antibody (protein

immunoglobulin) yang bertugas menghancurkan antigen sasarannya bersama sel T killer (Kropshofer and Vogt, 2007).

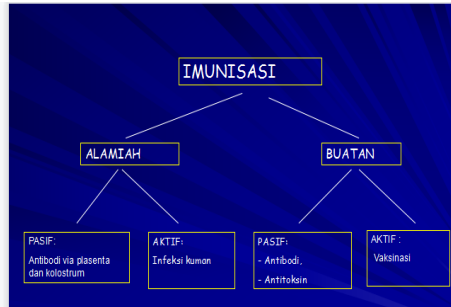


Gambar 2. Respon Imun specific melalui aktivitas seluler dan humoral.

Antigen yang semula ditangkap dan diproses oleh APC (lihat gambar 2), dipresentasikan ke reseptor pada sel Tc dan Th masing-masing dalam hubungan dengan MHC kelas I dan II. APC tersebut memproduksi dan melepas sitokin yang

merangsang sel T untuk berproliferasi dan berdiferensiasi. Aktifasi sel T oleh antigen spesifik menghasilkan sel T memori yang dapat memberikan respon sekunder terhadap antigen yang sama. Sel T memori merupakan sel yang dapat hidup lama dalam keadaan istirahat dan dapat diaktifkan monosit/makrofag (Subowo, 1993).

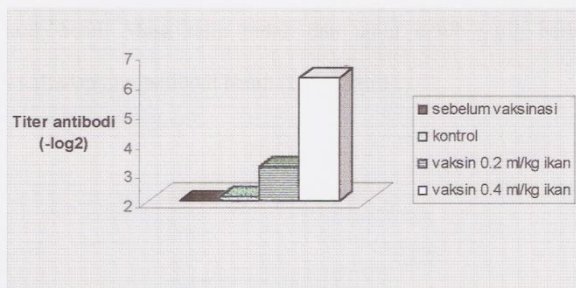
Sel Th yang dirangsang melepas sitokin yang kemudian mengaktifkan sel B dalam 3 tingkatan : aktivasi, proliferasi dan diferensiasi menjadi sel plasma yang akan memproduksi imunoglobulin (Ig). Sel B yang diaktifkan selanjutnya memproduksi Ig, sementara itu sel



## Imunisasi Alamiyah Pasif:

### 1. Transfer Imunitas Maternal

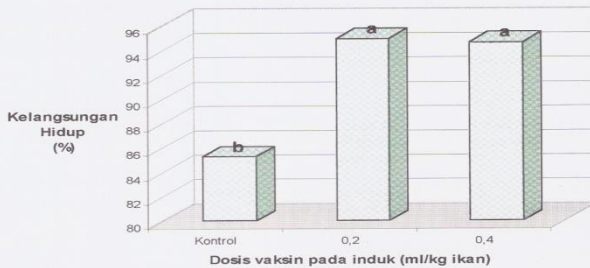
Mekanisme transfer antibodi induk ke anak ikan adalah melalui sel telur. Immunoglobulin ditransferkan dari serum induk ke kuning telur ketika telur masih berada dalam ovari.



Gambar 11. Titer antibodi induk ikan nila sebelum dan setelah vaksinasi dengan dosis yang berbeda.



Gambar 12. Titer antibodi benih ikan nila yang dihasilkan oleh induk yang diberi vaksin dengan dosis yang berbeda.



Gambar 15. Tingkat kelangsungan hidup benih ikan yang dihasilkan oleh induk yang divaksinasi dengan dosis yang berbeda yang diuji tantang dengan bakteri *S. imae*.

Dengan imunitas maternal diharapkan benih memiliki proteksi terhadap patogen ketika benih belum memproduksi antibodi sendiri.

Adanya sel B memori pada benih hasil transfer dari induk dapat memberikan respon imun yang lebih cepat dan tinggi jika kemudian terpapar dengan antigen yang sama,

Imunitas maternal adalah strategi vaksinasi yang lebih ekonomis karena melindungi induk sekaligus benih dari patogen.



## Imunisasi Buatan: Pasif

### Immune Serum Globulin (ISG) non spesifik

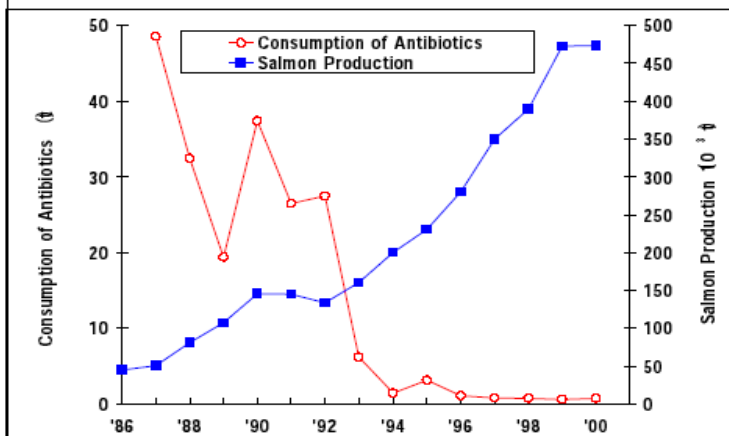
Preparat dikumpulkan dari donor sehat atau plasenta tanpa memperhatikan sudah atau belum divaksinasi/dalam atau tidak dalam masa kovalensi suatu penyakit. Diberikan pada inang dengan defisiensi antibodi

## 2. Immune Serum Globulin (ISG) spesifik

Plasma atau serum yang diperoleh dari donor yang dipilih sesudah imunisasi atau booster atau koalesen dari suatu penyakit. Disebut sesuai dengan jenisnya misalnya Tetanus Immune Globulin (TIG), Hepatitis B Immune Globulin (HBIG).

Imnisasi Buatan Aktif : VAKSINASI

### Salmon Production and Consumption of Antibiotics in Norway



### Salmon Production in Norway

(Quantity of slaughtered salmon. Tons live weight)

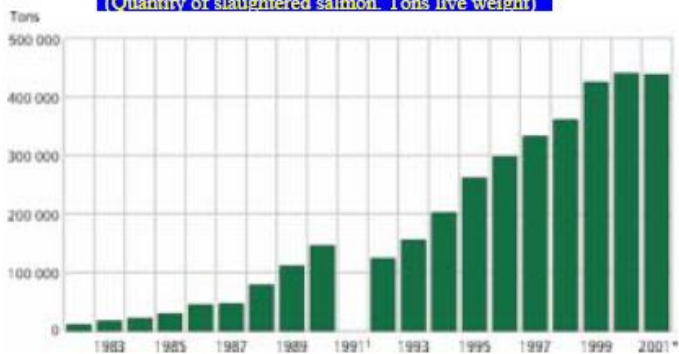
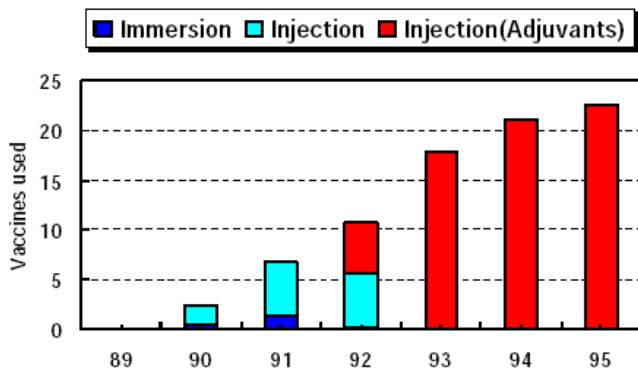


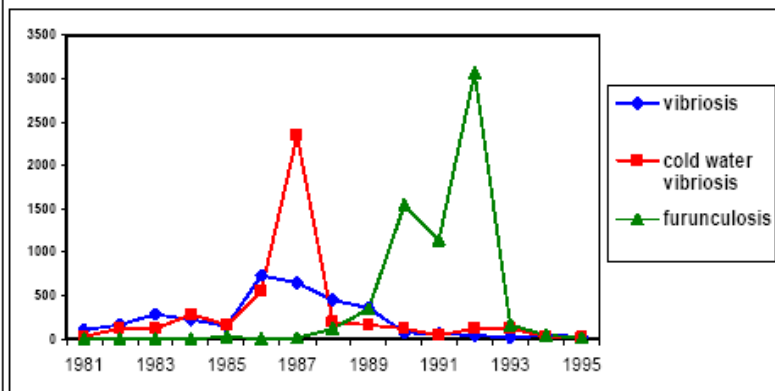
Figure for 1991 is unreliable and will not be published. Source: The Directorate of Fisheries and fish farming, Statistics Norway. More information: <http://www.fiskeridir.no> and [http://www.ssb.no/fiskeoppdrett\\_en/](http://www.ssb.no/fiskeoppdrett_en/). 2003 © Statistics Norway

### Increase of the use of Adjuvanted-vaccines in Norway



## Occurrence of major diseases in Norway

Number of disease specimens submitted to the Dept. of Fish Health,  
Natl. Vet. Inst. Oslo



from Ph. D Thesis by Dr. P. J. Midtlyng, 1998

### Fish Bacterial vaccines available commercially

Part 1

Disease	Administration Method	Species	Country	
Vibriosis	immersion, injection, oral	Ayu, Groupers, Salmonids, sea bass, sea bream	18 countries	Licensed & Exp.
Coldwater vibriosis	immersion, injection	Salmonids, Marine species	Canada, Iceland, Norway, Faeroe, UK, Ireland	Licensed
Winter ulcer	Injection	Salmonids	Iceland, Norway, UK, Faeroe Island	Licensed
Warm water Vibriosis	immersion, injection, oral	Groupers, sea bass, sea bream, snapper, shrimp	Hongkong, China, Malaysia, Philippine	Licensed & Exp.
Yersiniosis	immersion, injection, oral	Salmonids	17 countries	Licensed
Frunculosis	immersion, injection, oral	Salmonids, Marine species	16 countries	Licensed & Exp.
Mortal Aeromonas	Injection	Common carp	Russia	Exp.
$\alpha$ -Streptococosis	Injection, oral	Yellowtail, sea bass, sea bream	Japan, Australia, Italy, Spain	Licensed, Autogenous, Exp.
$\beta$ -Streptococosis	Injection, oral	Gold-striped amberjack, purish amberjack, Rainbow trout, Turbot, Tilapia	Chile, Spain, Russia	Licensed & Autogenous

### Fish viral vaccines available commercially

Disease	Species	Country
Infectious Pancreatic Necrosis (IPN)	Atlantic salmon	Chile, Norway, Faeroe Island
Iridovirus Disease	Red sea bream, Yellow tail, Striped jack	Japan
Infectious Salmon Anemia (ISA)	Atlantic salmon	Canada, USA
Viral hemorrhagic septicemia (VHS)	Rainbow trout	Germany (limited area)
Grass carp hemorrhagic Disease (GCHD) *1	Grass carp	China (limited area)

\*1 Experimental vaccine

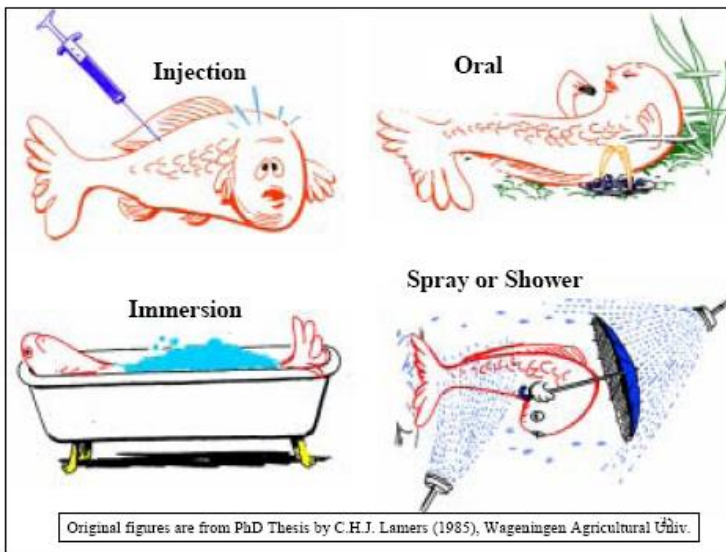
This table is prepared based on the lecture by Dr. Rodseth at 3rd Int. Symp. on Fish Vaccinology, April 2003 in Bergen, Norway with slight modification

16

**Current list of available vaccines in each country**

Country	Vaccines
Norway	Vibriosis, Frunculosis, Coldwater Vibriosis, Winter ulcer, IPN
Faeroe Island	Vibriosis, Winter ulcer, IPN
Ireland	Vibriosis, Frunculosis, Coldwater Vibriosis
UK, Iceland	Vibriosis, Frunculosis, Coldwater Vibriosis, Winter ulcer
Spain	Vibriosis, Frunculosis, Pasterellosis, F. maritimus, Streptococosis
Italy	Vibriosis, Frunculosis, Streptococosis
Greece	Vibriosis, Frunculosis, Pasterellosis
Turkey	Vibriosis, Pasterellosis
Russia	Streptococosis, Mortile Aeromonas
Canada	Vibriosis, Coldwater Vibriosis, Frunculosis, Yersiniosis, ISA
USA	Edwardsiellosis, ISA
Chille	Vibriosis, Frunculosis, F. columnare, Streptococosis, BKD, Piscirickettsiosis, IPN
Australia	Vibriosis, Frunculosis, Pasterellosis, F. maritimus, Streptococosis
Japan	Vibriosis, Streptococosis, Iridovirus
Honkong, China, Malaysia, Philipins	Warm water Vibriosis

This table is prepared based on the lecture by Dr. Hastein at 3<sup>rd</sup> Int. Sympo. on Fish Vaccinology, April 2003 in Bergen, Norway



### Comparison of delivery methods

	Injection	Immersion	Oral
Efficiency	High	Moderate	Low
Amounts of Vaccine	Small	Large	Large
Labor	Lots	A few	A few
Handling Stress	Yes	Moderate	No
Vaccination of small fish	Difficult	Possible	Possible
Use of Adjuvant	Possible	Difficult	Difficult
Operator safety	No	Yes	Yes

26

### Continuous injection machine

AQUAPISTOR



27

## ADJUVANT

Bahan (yang berbeda dari antigen) yang memacu aktifitas sel T melalui peningkatan akumulasi APC di tempat pajanan antigen dan ekspresi stimulator dan sitokin oleh APC.

Ajuvan memiliki sifat-sifat:

Membuat depot antigen dan melepaskan antigen sedikit demi sedikit sehingga memperpanjang pajanan antigen dengan sistem imun.

Mempertahankan integritas antigen

Mempunyai sasaran APC

Menginduksi CTL/Tc

Memacu respon imun dengan avinitas tinggi

Mempunyai kapasitas untuk mengintervensi sistem imun yang selektif (Sel B dan Sel T)

Freud's adjuvant (FA)

Mineral oil adalah komponen terbesar dari FA, emulsifying agents dan physiological saline digunakan sebagai tambahan.

Complete Freud's adjuvant ( CFA ) : ( + ) komponen Mycobacterium

Incomplete Freud's adjuvant ( IFA ) : ( - ) komponen Mycobacterium

CFA berfungsi : melindungi immunogen ( vaksin ) dalam kantong – kantong minyak sehingga memperpanjang pelepasan antigen tersebut ke jaringan hewan.

Komponen Mycobacterium juga mengaktifkan sel–sel T sehingga menstimulasi respon – respon selular.

Ex : Krants et al. ( 1963 )

ikan trout

Vaksin A. salmonicida : titer 1 : 160

Vaksin A. salmonicida + adjuvant : titer 1 : 5120

## **SOLUBLE MEDIATOR IMUN IKAN**

Cytokine (Kemokine, IFNs, Interleukin, TNFs, TGFs, CSFs)

Komplement

Antimikroba Peptida

Lektin

Faktor humoral

Mukus

## **PERLINDUNGAN MUKUS IKAN**

Struktur dan Fungsi Mukus Ikan Teleostei

Ikan memiliki berbagai mekanisme pertahanan kompleks yang menjamin eksistensi mereka dalam air. Mekanisme perlindungan tersebut mencakup komponen imun spesifik dan non-spesifik. Komponen imun bawaan dasar yang ditunjukkan pada ikan termasuk lapisan lendir yang ditemukan pada kulit dan saluran gastrointestinal, serta sel imun bawaan yang bersirkulasi dalam darah seperti fagosit dan sel pembunuh alami.

Perlindungan terhadap mikroorganisme patogen terutama disediakan oleh komponen imun bawaan. Hal ini karena respon imun spesifik sangat dipengaruhi oleh perubahan suhu lingkungan yang membuat mereka lambat sebagai akibat dari batasan suhu pada metabolisme mereka.

Mucus epidermal dihasilkan oleh sel mucus, terdiri dari air dan makromolekul pembentuk gel termasuk mucins dan glikoprotein lainnya. Lapisan mucus pada permukaan ikan memiliki sejumlah fungsi yaitu dalam menjaga ketahanan terhadap penyakit, respirasi, ion dan regulasi osmotik, gerak, reproduksi dan komunikasi. Lebih lanjut disebutkan pula bahwa mucus dari ikan mengandung berbagai senyawa biologis aktif seperti lisozim, lektin, enzim proteolitik, flavoenzim, imunoglobulin, protein C-reaktif, dan peptida antimikroba yang konstitutif untuk memberikan perlindungan untuk ikan dari potensi mikroba patogen dan parasit (Wei, Xavier, & Marimuthu, 2010). Aktivitas antimikroba pada mucus dari beberapa ikan air tawar telah banyak dilakukan namun aktivitas antimikroba tersebut sangat bervariasi pada beberapa spesies. Hal ini seperti yang telah ditunjukkan pada beberapa penelitian sebelumnya

bahwa aktivitas antimikroba pada mucus ikan air tawar hanya dilakukan pada ikanikan introduksi seperti ikan Nila (*Tilapia hornorum*) dan ikan Lele (*Channa batracus*) (Wei, Xavier, & Marimuthu, 2010)

Epidermal mucus yang dihasilkan oleh kulit ikan biasanya mengandung air dan glikoprotein dan disekresikan oleh sel-sel goblet yang terletak di lapisan epidermal. Epidermal mucus juga dikenal untuk melindungi kulit dari patogen dan partikel tersuspensi dan musinya memiliki potensi antimikroba dan sifat berbahaya.

Perlindungan yang diberikan adalah dengan secara terus-menerus epidermal mucus disekresikan dengan mencegah melekatnya patogen pada tubuh atau dengan bertindak sebagai gudang penyimpanan berbagai jenis sel penstimulasi imun termasuk imunoglobulin dan protein pelengkap. Epidermal mucus juga mengeluarkan lysozyme dan enzim proteolitik lainnya serta protein dan peptida antibakteri.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, I. E., Jamaris, I. Z., dan Hendi, S. P. 2015. *Penyakit ikan*. Jakarta. Penebar Swadaya Grup.
- Azis, S. P. 2019. *Marka Molekuler dalam Seleksi Ikan Lele Tahan Infeksi Aeromonas hydrophila*. Surabaya. Jakad Media Publishing.
- Hutomo, F. D. 2020. *Review Mengenai Respon Imun Interferon (IFn) Ikan Kerapu Tikus (Cromileptes Altivelis) Yang Terinfeksi VNN Dengan Perlakuan Protein Rekombinan Chlorella Vulgaris* (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).
- Ode, I. 2013. Kajian sistem imunitas untuk pengendalian penyakit pada ikan dan udang. *Agrikan: Jurnal Agribisnis Perikanan*, 6(2), 41-43.
- M Syamsul, A. S., dan Talista, A. 2019. *Bahan ajar teknologi bank darah (TBD) : Immunologi*. Jakarta : Kementerian Kesehatan RI. 2019
- Nugroho, R. A., dan Nur, F. M. 2018. *Potensi Bahan Hayati Sebagai Immunostimulan Hewan Akuatik*. Yogyakarta. Deepublish.
- Nur, I. 2019. *Penyakit ikan*. Yogyakarta Deepublish.

