

Respons imun dan kinerja pertumbuhan ikan lele, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) pada budi daya sistem bioflok dengan sumber karbon berbeda serta diinfeksi *Aeromonas hydrophila*

[Immune responses and growth performance of catfish (*Clarias gariepinus* Burchell 1822) cultivated in bioflok system with different carbon sources and infected with *Aeromonas hydrophila*]

Windu Sukendar^{1✉}, Widanarni², Mia Setiawati²

¹ Program Studi Ilmu Akuakultur, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor

² Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan-Institut Pertanian Bogor
Jl. Agatis, Kampus IPB, Dramaga, Bogor 16680

Diterima: 04 Maret 2016; Disetujui: 30 Agustus 2016

Abstrak

Salah satu penyakit yang sering menyerang ikan lele adalah *Motil Aeromonad Septicemia* yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi respon imun dan kinerja pertumbuhan ikan lele yang dibudidayakan pada sistem bioflok dengan sumber karbon yang berbeda serta diinfeksi oleh *A. hydrophila*. Penelitian dilakukan selama 30 hari, menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri atas lima perlakuan dengan tiga ulangan yaitu penambahan sumber karbon molase (A), tepung tapioka (B), tepung terigu (C), kontrol positif (D), dan kontrol negatif (E). Hasil penelitian menunjukkan bahwa respon imun seperti total eritrosit, hematokrit, kadar hemoglobin, jumlah leukosit, aktivitas fagositosis, dan ledakan pernapasan pada perlakuan molase (A), tepung tapioka (B), dan tepung terigu (C) menunjukkan hasil yang lebih baik daripada kontrol. Sumber karbon molase, tapioka, dan terigu mampu meningkatkan total bakteri dan menekan pertumbuhan *A. hydrophila* di air dan organ ikan lele. Kinerja pertumbuhan ikan lele di sistem bioflok dengan sumber karbon tepung tapioka memberikan laju pertumbuhan harian yang lebih tinggi dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dibandingkan kontrol. Sistem bioflok dengan sumber karbon molase, tapioka, dan terigu dapat menurunkan nisbah konversi pakan dan meningkatkan retensi protein. Retensi lemak dalam sistem bioflok dengan sumber karbon molase menunjukkan hasil tertinggi. Penambahan sumber karbon molase, tapioka, dan terigu dalam sistem bioflok dapat menurunkan kelimpahan *A. hydrophila* dan meningkatkan respon imun dan kinerja pertumbuhan ikan lele.

Kata penting : *Aeromonas hydrophila*, bioflok, ikan lele, respon imun, sumber karbon

Abstract

One of the diseases that often attack the catfish is motile aeromonas septicemia (MAS) caused by *Aeromonas hydrophila*. This study aimed to evaluate the immune responses and growth performance of catfish that cultivated on biofloc systems with different carbon sources and infected by *A. hydrophila*. This study was conducted over 30 days, consists of five treatments with three replications viz., providing molasses carbon source (A), tapioca flour (B), wheat flour (C), positive control (D) and a negative control (E). The results showed that the immune response such as total erythrocytes, hematocrit, hemoglobin concentration, total leukocyte, phagocytic activity, and respiratory burts activity at molasses (A), tapioca flour (B), and wheat flour (C) treatment showed better results than the control. Carbon sources from molasses, tapioca and wheat were able to increase total bacteria and decrease the growth of *A. hydrophila* in the waters as well as in catfish organs. Catfish growth performance in biofloc system with tapioca flour carbon source provide daily growth rate which was higher and significantly different ($p < 0.05$) than control. While the biofloc system with molasses, tapioca and wheat carbon source could decrease feed conversion ratio and increase the retention of the protein. Retention of lipid in the biofloc system with molasses carbon source showed the highest results. The addition of molasses, tapioca and wheat as carbon sources into bioflock system could reduce the abundance of *A. hydrophila*, while immune response and growth performance of catfish increase well.

Key words: *Aeromonas hydrophila*, biofloc, carbon sources, Catfish., immune response

Pendahuluan

Ikan lele (*Clarias* sp.) adalah ikan air tawar yang banyak dibudidayakan secara komersial oleh masyarakat Indonesia terutama di Pulau

Jawa. Untuk meningkatkan produksi, pembudidayaan biasanya melakukan budi daya intensif dengan meningkatkan padat tebar ikan. Sistem ini dinilai memiliki kekurangan diantaranya akumulasi pakan yang tidak termakan, bahan organik dan anorganik yang menjadi limbah serta bersifat

✉ Penulis korespondensi

Alamat surel: windusukendar91@gmail.com

toksik pada ikan yang dibudidayakan. Media budi daya yang tercemar oleh limbah dari sisa pakan, ekskresi ikan, dan feses menyebabkan ikan stres sehingga mudah terserang penyakit seperti infeksi bakteri, jamur atau virus. Salah satu penyakit yang sering menyerang ikan lele adalah bakteri *Aeromonas hydrophila* yang menimbulkan penyakit MAS (*Motile Aeromonad Septicaemia*) (Vivas *et al.* 2004).

Teknologi bioflok merupakan salah satu teknologi yang saat ini sedang dikembangkan dalam akuakultur yang bertujuan untuk memperbaiki kualitas air dan meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan. Teknologi ini didasarkan pada konversi nitrogen anorganik terutama ammonia oleh bakteri heterotrof menjadi biomassa mikroba yang kemudian dapat dikonsumsi oleh organisme budi daya (Ekasari 2009). Teknologi ini meminimalkan pergantian air untuk memperbesar biosekuritas dengan memperkecil efek luar terhadap lingkungan budi daya (De Schryver *et al.* 2008).

Sumber karbon yang digunakan dalam teknologi bioflok dapat berupa karbohidrat sederhana (monosakarida) dan karbohidrat kompleks (disakarida dan polisakarida). Sumber karbon molase memiliki kandungan karbon sebesar 36,15%, tapioka 48,89%, dan terigu 47,44%. Sumber karbon molase merupakan sumber karbon sederhana, sumber karbon ini memiliki keuntungan mudah diserap dan dimanfaatkan oleh bakteri untuk mempercepat pertumbuhan bakteri dalam mengabsorpsi nitrogen dan fosfat di dalam kolam budi daya. Sumber karbon tapioka dan terigu merupakan sumber karbon kompleks yang sulit dimetabolisme oleh bakteri, namun sumber karbon kompleks mampu menyediakan partikel-partikel yang dapat dimanfaatkan oleh bakteri sebagai tempat menempel (Chamberlain *et al.* 2001).

Penambahan karbohidrat pada media budi daya berpotensi untuk mengurangi konsentrasi nitrogen anorganik pada media budi daya sistem intensif (Avnimelech 2012). Menurut Purnomo (2012), jika karbohidrat ditambahkan dalam media pemeliharaan ikan akan dapat merangsang pertumbuhan bakteri heterotrof yang dapat dimanfaatkan ikan sebagai pakan tambahan bernutrisi. Hasil penelitian Crab *et al.* (2010a) menunjukkan perbedaan pemberian sumber karbon memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kandungan nutrisi di dalam flok. Pada penelitian Ekasari *et al.* (2014), penambahan sumber karbon berbeda pada teknologi bioflok mampu memberikan efek positif terhadap respon imun udang vannamei yang diuji tantang *Infectious Myonecrosis Virus* (IMNV).

Menurut Xu & Pan (2013) bioflok dapat meningkatkan respons imun seluler pada udang (*Litopenaeus vannamei*) yang ditunjukkan dengan meningkatnya nilai total hemosit dan aktivitas fagositik, serta meningkatkan total antioksidan pada plasma dan hepatopankreas. Crab *et al.* (2010b) menyatakan bahwa bioflok dapat membantu untuk mengontrol infeksi bakteri *Vibrio harveyi* pada kolam budi daya dengan menghambat kemampuan *quorum sensing*, sehingga dapat berperan sebagai agen biokontrol patogen (De Schryver *et al.* 2008). Pemeliharaan ikan nila pada sistem bioflok juga dapat meningkatkan indeks fagositasnya (Agustinus *et al.* 2010). Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi respons imun dan kinerja pertumbuhan ikan lele yang dibudidayakan pada sistem bioflok dengan sumber karbon berbeda serta diinfeksi *A. hydrophila*.

Bahan dan metode

Waktu dan tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – November 2015. Pemeliharaan hewan

uji, analisis mikroba dan hematologi ikan dilakukan di Laboratorium Kesehatan Ikan Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, sedangkan analisis proksimat daging ikan dilakukan di Laboratorium Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor.

Desain eksperimen dan kondisi pemeliharaan

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri atas lima perlakuan, yaitu penambahan sumber karbon molase (A), tepung tapioka (B), tepung terigu (C), kontrol positif (D), dan kontrol negatif (E) dengan tiga kali pengulangan. Bakteri probiotik *Bacillus* NP5 yang digunakan dalam penelitian diisolasi dari saluran pencernaan ikan nila (Putra 2010). Bakteri *Bacillus* NP5 sebelum digunakan terlebih dahulu diberi penanda resisten antibiotik rifampisin (*Bacillus* NP5 Rf^R). Bakteri patogen *A. hydrophila* yang digunakan merupakan koleksi dari Laboratorium Kesehatan Ikan Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Pemberian *Bacillus* NP5 dilakukan setiap tujuh hari sekali sedangkan *A. hydrophila* hanya dilakukan pada awal pemeliharaan.

Ikan lele yang digunakan dalam penelitian ini berukuran 4-5 cm yang telah diaklimatisasi selama tujuh hari. Selanjutnya ikan dipelihara pada akuarium berukuran 60x30x25 cm³ yang terlebih dahulu telah ditumbuhkan media bioflok. Volume flok pada media pemeliharaan berkisar antara 32,66-38,33 ml L⁻¹ dengan volume air 45 L per akuarium. Ikan ditebar dengan kepadatan 180 ekor per akuarium. Setelah ikan ditebar kemudian pada media pemeliharaan ditambahkan *A. hydrophila* dengan kepadatan 10³ sel ml⁻¹ pada semua perlakuan kecuali kontrol negatif. Ikan diberi pakan komersial dengan kandungan pro-

tein 34,54% sebanyak dua kali sehari secara *at satiation* selama 30 hari.

Pengamatan kelimpahan total bakteri, *Bacillus* NP5 dan *A. hydrophila* di air dilakukan setiap 10 hari sekali, pengamatan respons imun ikan dilakukan setiap 10 hari sekali. Pengamatan kelimpahan bakteri *A. hydrophila* di organ target dilakukan setiap 15 hari sekali. Pengamatan kinerja pertumbuhan, kelimpahan total bakteri dan isolat NP5 di usus dilakukan di akhir penelitian.

Penambahan sumber karbon

Hasil uji kandungan karbon organik pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan C-organik dalam sumber karbon

Sumber karbon	Kadar Air	C-Organik*
Molase	28,31%	36,15%
Tapioka	11,82%	48,89%
Terigu	12,34%	47,44%

Keterangan *: Metode C-Organik : Walkley and Black Metoda ; Kadar Air: SNI.01.2891.1992

Jumlah karbon yang ditambahkan ke dalam media pemeliharaan dihitung menggunakan persamaan De Schryver (2008) berikut:

$$\Delta CH = \frac{(Pakan X \times \%N pakan \times \%N eksresi) \times [C/N]}{\%C organik \times E}$$

Keterangan: ΔCH = jumlah karbon yang ditambahkan (g), Pakan X= jumlah pakan yang diberikan per hari dikalikan dengan kandungan protein pada pakan (g), N pakan= kandungan nitrogen dalam pakan (%), N eksresi= kandungan nitrogen yang dibuang oleh ikan (%), C/N= ratio C/N yang diinginkan (15), % C organik= kandungan karbon dalam sumber karbon (%), E= efisiensi kemampuan konversi mikroba (%).

Parameter uji

Perhitungan kelimpahan bakteri di dalam air pemeliharaan ikan meliputi jumlah total bakteri, jumlah bakteri *Bacillus* NP5, dan jumlah *A. hydrophila* dilakukan setiap 10 hari dengan cara mengambil sampel dari air pemeliharaan. Kemu-

dian dihitung dengan menggunakan teknik *total plate count* (TPC) pada media *Trypticase Soy Agar* (TSA) untuk total bakteri, TSA rif untuk *Bacillus* NP5; sedangkan *Rimler-Shotts Medium Base* (RS Medium) spesifik buat bakteri *A. hydrophila*. Setelah itu bakteri diinkubasi selama 24 jam kemudian dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh dengan menggunakan rumus (Madigan *et al.* 2014) sebagai berikut:

$$\text{TKB} = \sum \text{koloni} \times \frac{1}{\text{Vol. sebar (mL)}} \times \frac{1}{fp}$$

Keterangan: TKB= total kelimpahan bakteri, *fp*= faktor pengenceran, vol. sebar= volume sampel bakteri yang disebar

Parameter kualitas air yang diukur meliputi oksigen terlarut diukur menggunakan alat *dissolved oxygen* meter (DO meter), pH diukur dengan menggunakan pH meter; sedangkan total amonia nitrogen dan nitrit diukur menggunakan alat spektrometer (Clesceri *et al.* 1999).

Volume flok merupakan representasi dari kepadatan partikel flok dalam suatu kolom air (Avnilemech 2012). Sebanyak 50 mL sampel air diendapkan selama 30 menit dalam tabung *conical* 50 mL. Volume flok yang mengendap dicatat dan selanjutnya dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Volume flok (mL/L)} = \frac{\text{Volume endapan}}{\text{Volume sampel air}} \times 100$$

Total eritrosit diukur menggunakan prosedur Blaxhall & Daisley (1973). Sampel darah diambil menggunakan pipet yang berisi bulir berwarna merah sampai skala 0,5, kemudian ditambahkan larutan Hayem's sampai skala 101, lalu dilakukan pengadukan dengan menggoyangkan pipet selama 3–5 menit hingga darah dan larutan Hayem's tercampur rata. Tetesan pertama dibuang dan tetesan berikutnya diteteskan pada hemasitometer, kemudian ditutup dengan gelas penutup dan diamati di bawah mikroskop dengan

perbesaran 250x. Perhitungan total eritrosit menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{TE} = \sum \text{TE} \times \frac{1}{\text{Vol. kotak}} \times \frac{1}{fp}$$

Keterangan: \sum TE= jumlah sel eritrosit yang teramati, vol. kotak= volume kotak, hemasitometer, *Fp*= faktor pengenceran

Kadar hematokrit diukur dengan mengambil sampel darah menggunakan tabung mikrohmatokrit dan disentrifus dengan kecepatan 6000 rpm selama 5 menit, kemudian dihitung dengan persamaan (Anderson & Siwicki 1995).

$$\text{He} = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Keterangan: He= kadar hematokrit (%), A= bagian darah yang mengendap dalam tabung hematokrit (cm), B= bagian seluruh darah dalam tabung hematokrit (cm)

Kadar hemoglobin diukur dengan metode Sahli menggunakan sahlinometer (Wedemeyer & Yasutake 1977). Sampel darah dihisap menggunakan pipet Sahli hingga skala 20 cm³ atau 0,02 mL, kemudian dimasukkan ke dalam tabung Hb-meter yang telah diisi dengan HCl 0,1 N sampai skala 10 (merah), lalu dilakukan pengadukan dan didiamkan selama 3–5 menit. Selanjutnya, akua-des dimasukkan ke dalam tabung Hb-meter hingga terjadi perubahan warna seperti warna larutan standar pada Hb-meter. Skala dibaca dengan melihat permukaan cairan dan dicocokkan dengan skala tabung Sahli yang dilihat pada skala jalur g% (kuning) yang berarti banyaknya Hb per 100 mL darah.

Pengukuran sel leukosit dilakukan menurut Blaxhall & Daisley (1973). Sampel darah diambil menggunakan pipet bulir putih sampai skala 0,5 kemudian ditambahkan larutan Turk's sampai skala 11, lalu dilakukan pengadukan dengan menggoyangkan pipet selama 3–5 menit hingga darah dan larutan Turk's tercampur rata. Tetesan pertama dibuang dan tetesan berikutnya diteteskan pada hemasitometer, kemudian ditutup dengan gelas penutup dan diamati di bawah mi-

kroskop. Penghitungan total sel leukosit menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$TL = \Sigma TL \frac{1}{\text{Vol. kotak}} \times \frac{1}{fp}$$

Keterangan: ΣTL = jumlah sel leukosit yang teramati, vol. kotak= volume kotak hemasitometer, fp = faktor pengenceran

Aktivitas fagositik diukur dengan membuat preparat ulas darah dari sampel darah yang dicampur dengan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* (10^7 CFU mL^{-1}) dan diinkubasi selama 20 menit. Preparat ulas dikeringkan, difiksasi dengan metanol selama 5 menit dan dikeringkan kembali, kemudian diwarnai melalui perendaman dalam larutan giemsa selama 20 menit. Preparat ulas diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x untuk menentukan aktivitas fagositik yang didasarkan pada persentase dari 100 sel fagositik yang menunjukkan proses fagositosis (Anderson & Siwicki 1995).

Ledakan pernapasan (*respiratory burst*) diukur dengan mengisi lubang *mikroplate* dengan darah sebanyak 50 μL lalu diinkubasi selama satu jam didalam inkubator suhu 37°C. Setelah satu jam kemudian darah dibuang dan dibilas menggunakan *phosphate buffer saline* (PBS) sebanyak 100 μL . Ditambahkan larutan *nitroblue tetrazolium* (NBT) sebanyak 50 μl lalu diinkubasi kembali selama satu jam pada suhu 37°C. Setelah satu jam diinkubasi, larutan NBT dibuang dan dibilas dengan metanol 100% sebanyak 100 μl . Sebelum metanol dibuang terlebih dahulu diinkubasikan selama 10 menit, kemudian dibilas dengan metanol 30%. Larutan KOH 60 μL dan DMSO 70 μL ditambahkan kedalam lubang *mikroplate* lalu dibaca menggunakan alat *mikroplate reader* untuk memperoleh nilai ledakan pernapasan (Divyagnaneswari *et al.* 2007).

Jumlah bakteri *A. hydrophila* di organ target dihitung dengan menggunakan metode TPC setiap 15 hari sekali dimulai setelah pe-

nebaran ikan. Organ target yang diamati adalah ginjal dan hati. Masing-masing organ target sebanyak 0,1 gram digerus dan dilarutkan dalam 1 mL PBS steril, divortex kemudian dilakukan pengenceran berseri. Selanjutnya diambil 50 μL dan disebar pada permukaan agar cawan RS Medium, diinkubasi selama 24 jam, lalu dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh dengan menggunakan rumus (Madigan *et al.* 2014) sebagai berikut:

$$TKB = \Sigma \text{koloni} \times \frac{1}{\text{Vol. sebar (mL)}} \times \frac{1}{fp}$$

Keterangan: TKB= total kelimpahan bakteri, Σ koloni= jumlah koloni bakteri *A. hydrophila* yang terhitung, fp = faktor pengenceran, vol. sebar= volume sampel bakteri yang disebar di media cawan petri

Laju sintasan dapat dihitung dengan menggunakan rumus (Goddard 1996) sebagai berikut:

$$LS = \frac{Nt}{No} \times 100$$

Keterangan: LS= laju sintasan (%), Nt = jumlah ikan yang hidup di akhir pemeliharaan (ekor), No = jumlah ikan yang hidup di awal pemeliharaan (ekor)

Laju pertumbuhan harian ikan dihitung dengan menggunakan rumus (Huisman 1987) sebagai berikut:

$$LPH = \frac{\ln Wt - \ln Wo}{t} \times 100$$

Keterangan: LPH= laju pertumbuhan harian (%), Wo = bobot tubuh ikan pada awal pemeliharaan (g), Wt = bobot tubuh ikan pada akhir pemeliharaan (g), t = waktu pemeliharaan (hari)

Konversi pakan dihitung dengan menggunakan rumus (Huisman 1987) sebagai berikut:

$$RKP = \frac{\Sigma \text{pakan}}{Bt + BM - B0}$$

Keterangan: RKP= nisbah konversi pakan, Σ Pakan= jumlah pakan yang diberikan selama penelitian (g), Bt = biomassa ikan di akhir penelitian (g), BM = biomassa ikan yang mati selama penelitian (g), $B0$ = biomassa ikan pada awal penelitian (g)

Retensi protein dihitung melalui analisis proksimat protein tubuh ikan uji pada awal dan

akhir pemeliharaan. Rumus perhitungan retensi protein adalah sebagai berikut (Takeuchi 1988):

$$RP = \frac{F - I}{P} \times 100$$

Keterangan: RP= Retensi protein (%), F= jumlah protein ikan pada akhir pemeliharaan (g), I= jumlah protein ikan pada awal pemeliharaan (g), P= jumlah protein yang dikonsumsi ikan (g)

Retensi lemak dihitung melalui analisis proksimat lemak tubuh ikan uji pada awal dan akhir pemeliharaan. Rumus perhitungan retensi lemak adalah sebagai berikut (Takeuchi 1988):

$$RL = \frac{F - I}{L} \times 100$$

Keterangan: RL= retensi lemak (%), F: jumlah lemak ikan pada akhir pemeliharaan (g), I= jumlah lemak ikan pada awal pemeliharaan (g), P= jumlah lemak yang dikonsumsi ikan (g)

Penghitungan kelimpahan bakteri yang terdapat di dalam usus ikan dilakukan pada akhir penelitian meliputi jumlah total bakteri dan *Bacillus* NP5. Usus sebanyak 0,1 gram digerus dan dilarutkan dalam 1 mL PBS steril, divortex lalu dilakukan pengenceran berseri. Selanjutnya diambil 50 µl dan disebar pada permukaan agar cawan dengan media TSA untuk total bakteri dan TSA Rif untuk *Bacillus* NP5. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam kemudian dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh dengan menggunakan rumus (Madigan *et al.* 2014).

Analisis statistik

Data kelimpahan bakteri di air, di organ target dan di usus serta kinerja pertumbuhan dianalisis secara kuantitatif menggunakan program SPSS (versi 16). Analisis varian satu arah (*One-way ANOVA*) digunakan untuk menentukan apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara perlakuan, jika terdapat pengaruh yang signifikan, perbedaan antar perlakuan diuji lanjut de-

ngan Tuckey pada selang kepercayaan 95%. Data parameter kualitas air dianalisis secara deskriptif.

Hasil

Jumlah total bakteri, *Bacillus* NP5 dan *Aeromonas hydrophila* di air

Setelah 30 hari masa pemeliharaan, perlakuan dengan pemberian sumber karbon molase, tapioka, dan terigu menunjukkan total bakteri di air lebih tinggi (Tabel 2), dengan nilai tertinggi (10^7 CFU ml⁻¹) pada perlakuan tapioka dan berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap perlakuan kontrol. Total bakteri *Bacillus* NP5 di air (Tabel 2) pada perlakuan sumber karbon molase paling tinggi pada akhir pengamatan dibandingkan perlakuan sumber karbon tapioka dan terigu. Total bakteri *A. hydrophila* di air (Tabel 2) pada perlakuan kontrol positif paling tinggi dan berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap perlakuan dengan penambahan sumber karbon.

Kualitas Air

Selama penelitian dilakukan, parameter kualitas air berada dalam kisaran layak untuk kegiatan budi daya ikan lele meliputi oksigen terlarut (4,3-7,6 mg L⁻¹), pH (6,3-7,8), suhu (27-28°C), total amonia nitrogen (0,19-1,10 mg L⁻¹), dan nitrit (0,29-0,84 mg L⁻¹).

Respons imun

Hasil pengamatan gambaran darah ikan lele yang dipelihara pada sistem bioflok dengan penambahan sumber karbon berbeda menunjukkan hasil yang bervariasi (Gambar 1). Perubahan yang terjadi pada gambaran darah menggambarkan status kesehatan ikan.

Tabel 2. Total bakteri, *Bacillus* NP5 dan *Aeromonas hydrophila* di air pemeliharaan ikan lele yang dibudidayakan pada sistem bioflok dengan sumber karbon berbeda serta diinfeksi *A. hydrophila*

Parameter uji	Hari ke-	Perlakuan				
		A	B	C	D	E
Total bakteri (Log CFU ml ⁻¹)	10	7,37±0,04 ^a	7,48±0,03 ^a	7,36±0,28 ^a	6,31±0,50 ^b	5,90±0,11 ^b
	20	7,39±0,18 ^a	6,90±0,21 ^b	7,17±0,08 ^{ab}	6,32±0,08 ^c	6,39±0,04 ^c
	30	7,11±0,71 ^a	7,31±0,15 ^a	7,13±0,02 ^a	6,00±0,35 ^b	6,49±0,06 ^{ab}
Total NP5 (Log CFU ml ⁻¹)	10	6,60±0,07 ^a	5,72±0,22 ^b	6,56±0,33 ^a	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^c
	20	6,07±0,02 ^a	6,12±0,09 ^a	5,37±0,63 ^a	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b
	30	7,19±0,78 ^a	5,19±1,52 ^a	5,46±0,49 ^a	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b
Total <i>A. hydrophila</i> (Log CFU ml ⁻¹)	0	1,56±0,24 ^a	1,56±0,25 ^a	1,56±0,26 ^a	1,56±0,27 ^a	1,56±0,28 ^a
	10	5,12±0,08 ^a	4,91±0,06 ^b	4,80±0,03 ^b	5,18±0,08 ^a	4,91±0,03 ^b
	20	4,10±0,79 ^a	3,92±0,28 ^a	4,53±0,13 ^a	4,67±0,35 ^a	4,78±0,06 ^a
	30	3,93±0,36 ^b	4,12±0,34 ^b	4,24±0,31 ^b	4,99±0,08 ^a	4,30±0,04 ^{ab}

Huruf tika atas yang berbeda di tiap baris pada hari yang sama menunjukkan perbedaan secara statistik (Uji jarak berganda Tuckey; $p < 0,05$). A= perlakuan penambahan sumber karbon molase; B= tepung tapioka; C= tepung terigu; D= kontrol positif; E = kontrol negatif.

Total bakteri *A. hydrophila* di organ target

Hasil pengamatan *A. hydrophila* di hati ikan uji (Gambar 2a) menunjukkan ada penurunan di hari ke-30 dari pengamatan sebelumnya pada perlakuan sumber karbon molase dan tapioka yang berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan perlakuan kontrol. Hasil pengamatan *A. hydrophila* di ginjal (Gambar 2b) menunjukkan bahwa sumber karbon molase dan tapioka mampu menekan pertumbuhan *A. hydrophila* yang berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap perlakuan kontrol.

Kinerja pertumbuhan

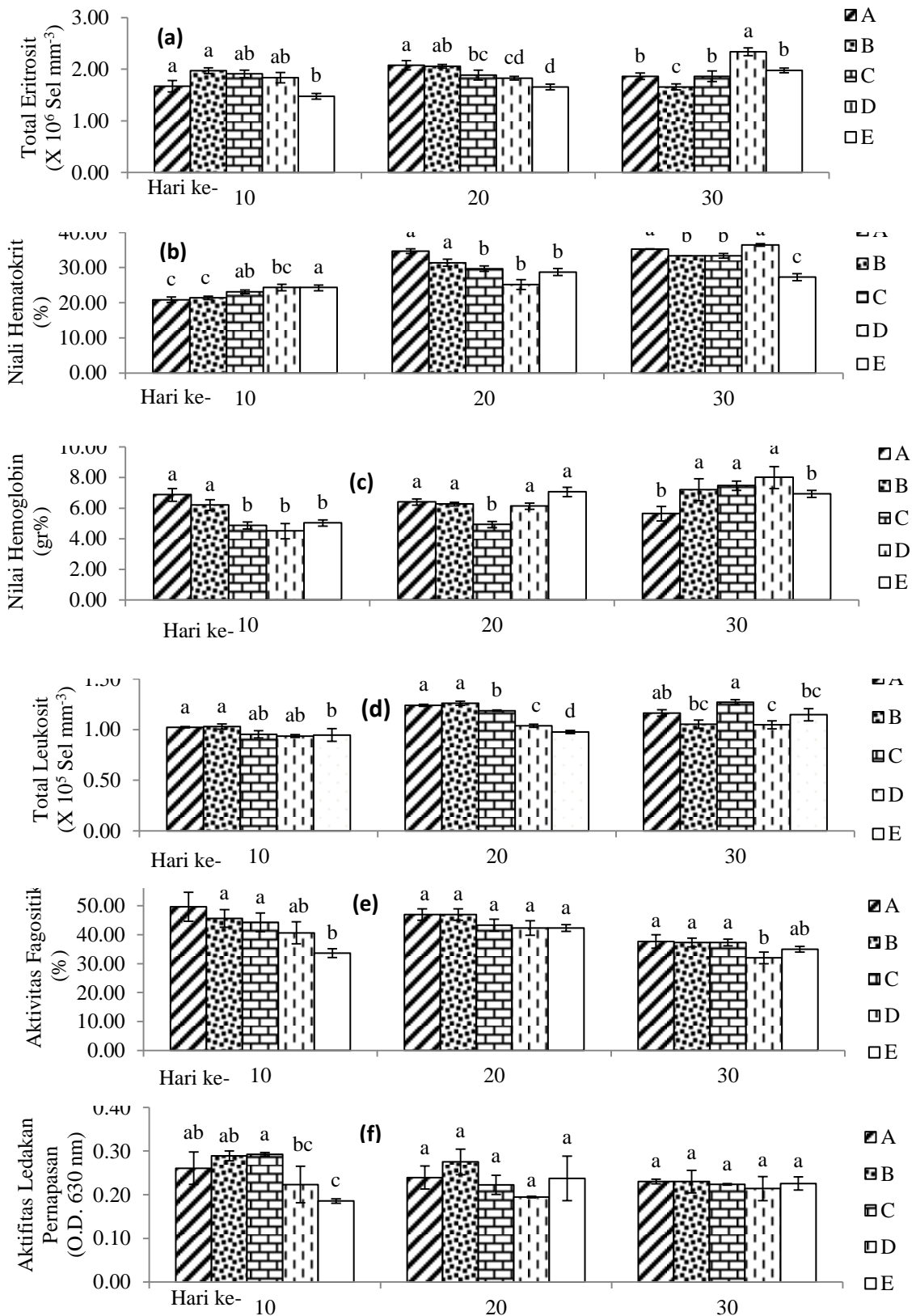
Laju sintasan ikan selama 30 hari pemeliharaan pada perlakuan pemberian molase menunjukkan nilai tertinggi (89,44±5,47%) dan berbeda nyata ($p < 0,05$; Gambar 3a) terhadap perlakuan kontrol positif dan negatif. Meski demikian tingkat sintasan pada pemberian sumber karbon molase, tapioka dan terigu tidak berbeda nyata antar perlakuan ($p > 0,05$; Gambar 3a).

Nilai laju pertumbuhan harian pada perlakuan dengan pemberian sumber karbon molase, tapioka dan terigu menunjukkan hasil yang lebih

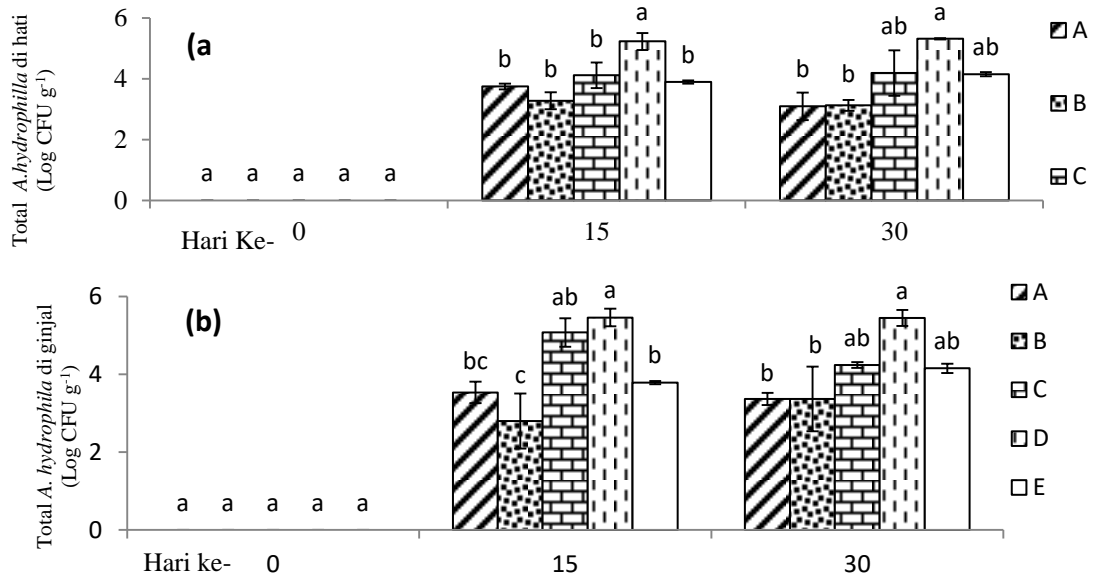
baik (5,64–5,96%) dan berbeda nyata ($p < 0,05$; Gambar 3b) dibandingkan perlakuan kontrol positif dan negatif.

Hasil perlakuan pemberian molase, tapioka dan terigu pada nisbah konversi pakan menunjukkan nilai terendah (0,49-0,53) yang berbeda nyata ($p < 0,05$; Gambar 3c) dengan perlakuan kontrol positif dan negatif.

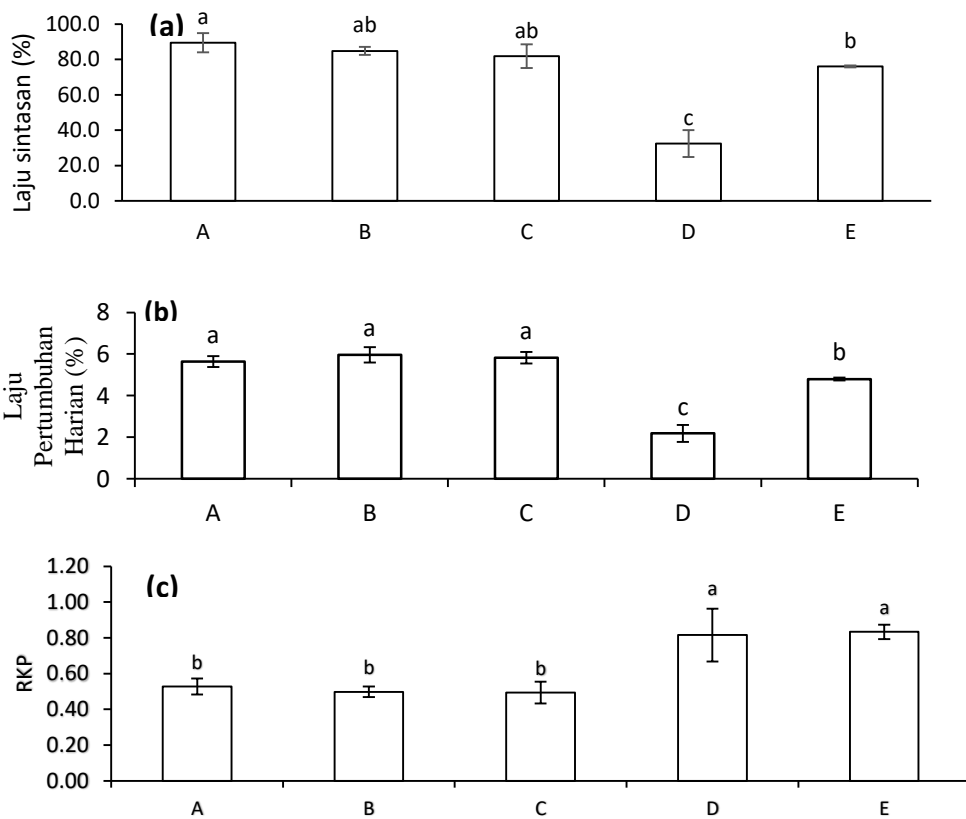
Nilai retensi protein pada perlakuan molase, tapioka dan terigu menunjukkan hasil tertinggi (56,99 - 59,67%) dan berbeda nyata ($p < 0,05$; Tabel 3) terhadap perlakuan kontrol positif dan negatif. Retensi lemak pada perlakuan molase menunjukkan nilai tertinggi (100,19%) yang berbeda nyata ($p < 0,05$; Tabel 3) terhadap kontrol namun demikian retensi lemak pada pemberian sumber karbon molase, tapioka dan terigu tidak berbeda nyata antarperlakuan ($p > 0,05$; Tabel 3). Total bakteri dan total bakteri *Bacillus* NP5 di usus ikan uji pada perlakuan dengan penambahan sumber karbon molase, tapioka dan terigu lebih tinggi dan berbeda nyata terhadap kontrol ($p < 0,05$; Tabel 3).



Gambar 1. Nilai total eritrosit (a), kadar hematokrit (b), kadar hemoglobin (c), nilai total leukosit (d), aktivitas fagositik (e) dan aktivitas ledakan pernapasan (f) ikan lele yang dipelihara selama 30 hari. Huruf tika atas yang berbeda di tiap batang histogram pada hari yang sama menunjukkan perbedaan secara statistik (Uji jarak berganda Tuckey; $p < 0,05$). A = Perlakuan penambahan sumber karbon molase; B = tepung tapioka; C = tepung terigu ; D = kontrol positif; E = kontrol negatif.



Gambar 2. Total *A. hydrophila* di hati (a) dan di ginjal (b) ikan lele yang dibudidayakan pada sistem bioflok dengan sumber karbon berbeda serta diinfeksi *A. hydrophila*. Huruf tika atas yang berbeda di tiap batang histogram pada hari yang sama menunjukkan perbedaan secara statistik (Uji jarak berganda Tuckey; $p < 0,05$). Perlakuan pemberian sumber karbon molase (A); tepung tapioka (B); tepung terigu (C); kontrol positif (D); kontrol negatif (E).



Gambar 3. Nilai sintasan (a), laju pertumbuhan harian (b) dan nisbah konversi pakan (c) ikan lele yang dipelihara selama 30 hari. Huruf tika atas yang berbeda pada batang histogram menunjukkan perbedaan secara statistik (Uji jarak berganda Tuckey; $p < 0,05$). A = Perlakuan penambahan sumber karbon molase; B = tepung tapioka; C = tepung terigu ; D = kontrol positif; E = kontrol negatif.

Tabel 3. Jumlah konsumsi pakan, retensi protein, retensi lemak dan total bakteri di usus ikan lele yang dibudidayakan pada sistem bioflok dengan sumber karbon berbeda serta diinfeksi *A. hydrophila*

Parameter uji	Perlakuan				
	A	B	C	D	E
JKP (g)	438,28±0,96 ^b	437,88±1,42 ^b	439,31±0,17 ^b	308,35±0,90 ^c	480,23±0,57 ^a
RP (%)	58,26±3,28 ^a	56,99±6,62 ^a	59,67±4,18 ^a	19,90±4,92 ^c	36,58±1,19 ^b
RL (%)	100,19±19,00 ^a	88±33,71 ^{ab}	94,46±15,37 ^{ab}	46,94±8,64 ^{bc}	24,70±7,65 ^c
TBU (Log CFU ml ⁻¹)	8,44±0,06 ^a	8,42±0,17 ^a	8,41±0,03 ^a	7,27±0,03 ^b	7,24±0,08 ^b
TNU (Log CFU ml ⁻¹)	6,40±0,01 ^a	6,35±0,06 ^a	5,80±0,71 ^a	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b

Huruf tika atas yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan pengaruh perlakuan yang berbeda nyata (uji Tuckey; p<0,05). Nilai yang tertera merupakan nilai rata-rata dan simpangan baku. JKP = jumlah konsumsi pakan; RP = retensi protein; RL = retensi lemak; TBU = total bakteri di usus; TNU= total *Bacillus* NP5 di usus. A= perlakuan penambahan sumber karbon molase, B = tapioka, C = terigu, D = kontrol positif dan E = kontrol negatif.

Pembahasan

Penambahan sumber karbon berbeda memengaruhi keberadaan total bakteri dan total *Bacillus* NP5 di media pemeliharaan (Tabel 1). Kim *et al.* (2014) menyatakan bahwa penggunaan media bioflok mampu meningkatkan total kepadatan bakteri dari 10⁶ hingga 10⁷. Hasil penelitian yang sama ditunjukkan oleh Ekasari *et al.* (2014), bahwa penambahan sumber karbon pada media bioflok mampu meningkatkan total bakteri pada media pemeliharaan.

Volume flok merupakan salah satu indikator terbentuknya flok di media budi daya. Pada penelitian ini volume flok pada perlakuan molase, tapioka dan terigu berkisar antara 32,66-38,33 ml L⁻¹. Nilai ini selaras dengan hasil penelitian Apriani *et al* (2016) yang menyatakan volume flok dengan penambahan sumber karbon molase, tapioka dan terigu berkisar antara 22,2 – 59,3 ml L⁻¹, sedangkan menurut De Schryver *et al.* (2008) volume flok yang baik diatas 200 ml g⁻¹. Ekasari (2009) menyatakan intensitas pengadukan yang terlalu tinggi dapat memengaruhi ukuran bioflok sedangkan kandungan oksigen yang terlalu rendah dapat menyebabkan dominasi bakteri filamen pada bioflok yang akan menyebabkan bioflok cenderung terapung. Bioflok yang baik mengandung bakteri, bakteri filamen, partikel

koloid, alga, protozoa, fitoplankton, dan sel mati yang dapat dijadikan sebagai sumber makanan cadangan bagi ikan (Avnimelech 2007, De Schryver *et al.* 2008).

Jumlah total bakteri *A. hydrophila* selama pemeliharaan mengalami penurunan pada berbagai sumber karbon. Penurunan ini diduga karena keberadaan *Bacillus* NP5 pada media bioflok yang mampu menekan pertumbuhan *A. hydrophila*. Hasil penelitian Tamamdusturi (2015) menunjukkan bahwa keberadaan probiotik *Bacillus* NP5 mampu menghambat pertumbuhan *A. hydrophila*. Menurut Crab *et al.* (2010b), bioflok mampu menghambat pertumbuhan berbagai jenis patogen dengan cara menghambat *quorum sensing* dari bakteri patogen tersebut. Hal ini diperegas oleh Defoirdt *et al.* (2007) yang menyatakan probiotik golongan *Bacillus* sp. diketahui mampu menghasilkan senyawa *poly-b-hydroxybutyrate* (PHB) yang dapat menghambat pertumbuhan patogen *Vibrio campbellii*. Defoirdt *et al.* (2011) juga menambahkan bahwa *Bacillus* sp. mampu menghasilkan senyawa *acyl homoserine lactonase* yang dapat mencegah terjadinya *quorum sensing* dari bakteri patogen seperti *A. hydrophila*. *Quorum sensing* merupakan kemampuan bakteri untuk berkomunikasi antar sel-sel yang memungkinkan bakteri untuk berbagi

informasi tentang kepadatan sel dan menyesuaikan ekspresi gen.

Meningkatnya nilai total bakteri *Bacillus* NP5 di air pada perlakuan molase diduga karena sumber karbon molase merupakan sumber karbon sederhana (monosakarida) sehingga *Bacillus* NP5 lebih mudah dalam memanfaatkan sumber karbon tersebut sebagai energi dalam menyusun bioflok. Hal ini dipertegas oleh Chamberlain *et al.* (2001) yang menyatakan bahwa penggunaan sumber karbon sederhana memiliki keuntungan mudah diserap dan dimanfaatkan oleh bakteri untuk mempercepat pertumbuhan bakteri dalam mengabsorpsi nitrogen dan fosfat di dalam kolam budi daya. Sumber karbon kompleks sulit dimetabolisme oleh bakteri namun sumber karbon kompleks mampu menyediakan partikel-partikel yang dapat dimanfaatkan oleh bakteri sebagai tempat menempel.

Status kesehatan ikan lele yang diamati berdasarkan nilai gambaran darah seperti total eritrosit (TE), kadar hemoglobin (Hb), dan kadar hematokrit (Hc) mengalami fluktuasi. Penurunan dapat terjadi karena adanya infeksi bakteri *A. hydrophila* yang mampu menghasilkan eksotoksin dan endotoksin yang menyebabkan sel darah menjadi lisis (Hardi *et al.* 2014). Pada penelitian Yousr *et al.* (2007) dan Chirilia *et al.* (2008) juga ditegaskan bahwa *A. hydrophila* mampu menghasilkan produk ekstraseluler seperti aerolisin dan hemolisin yang mampu menimbulkan aktivitas haemolisis pada eritrosit. Pada penambahan sumber karbon, peningkatan terjadi kembali karena adanya kumpulan flok yang mampu mengganggu komunikasi antarsel patogen sehingga dapat menjadi agen biokontrol di media pemeliharaan (De Schryver *et al.* 2008). Selain itu, partikel bioflok juga mengandung bakteri yang menguntungkan seperti *Bacillus* dan *Lactobacillus* (Anand *et al.* 2014). Hasil penelitian

Tamam dusturi (2015) dan Agung (2015) menunjukkan bahwa pemberian probiotik *Bacillus* sp. mampu meningkatkan nilai TE, Hb, dan Hc pada ikan patin dan ikan nila. Pada perlakuan kontrol positif pada hari ke-30 dapat dilihat bahwa nilai TE, Hb, dan Hc terus meningkat, diduga karena ikan dalam kondisi stres akibat infeksi bakteri. Hal ini mempertegas pendapat Wedemeyer & Yasutake (1977) yang menyatakan bahwa tingginya nilai total eritrosit pada ikan menunjukkan ikan berada dalam kondisi stres.

Pemberian sumber karbon yang berbeda dan bakteri *Bacillus* NP5 pada media bioflok diduga dapat meningkatkan nilai total leukosit (TL), aktivitas fagosit (AF), dan ledakan pernapasan yang merupakan salah satu indikator respons imun pada ikan. Terjadinya peningkatan nilai TL, AF, dan ledakan pernapasan diduga karena bakteri probiotik seperti *Bacillus* NP5 yang masuk ke tubuh ikan melalui flok yang termakan oleh ikan mampu menstimulasi tubuh untuk meningkatkan sistem imun. Hal ini mempertegas oleh O'Toole & Cooney (2008) yang menyatakan probiotik mampu menstimulasi respon imun non spesifik. Kim *et al.* (2014) juga menyatakan bahwa bakteri yang terdapat dalam bioflok berkontribusi dalam meningkatkan sistem imun udang ketika bioflok dikonsumsi oleh udang. Hasil penelitian Xu & Pan (2013) juga menunjukkan bahwa udang yang dipelihara pada media bioflok mampu meningkatkan respons imun berupa nilai total hemosit, aktivitas fagositik, aktivitas antibakteri dan aktivitas bakteriolitik. Berdasarkan hasil penelitian Ekasari *et al.* (2014), ketika udang dipelihara pada media bioflok dengan penambahan sumber karbon berbeda mampu memberikan pengaruh yang nyata terhadap respons imun udang berupa total hemosit, aktivitas phenoloxidase dan aktivitas ledakan pernapasan baik sebelum maupun setelah diuji tan-

tang dengan IMNV. Kenaikan nilai TL, AF, dan ledakan pernapasan juga diduga disebabkan oleh adanya bakteri patogen seperti *A. hydrophila* yang masuk ke dalam tubuh ikan. Hal ini sejalan dengan pendapat Tamamdusturi (2015) yang menyatakan bahwa produksi TL meningkat bila terdapat infeksi pada tubuh ikan, hal ini terkait kinerja sistem imun dalam melawan infeksi tersebut melalui proses fagositik. Penurunan nilai TL, AF, dan ledakan pernapasan diduga disebabkan oleh menurunnya jumlah bakteri patogen *A. hydrophila* yang menyerang ikan yang dipelihara pada perlakuan dengan penambahan sumber karbon molase, tapioka, dan tepung terigu. Hal ini dapat dilihat dari jumlah total bakteri *A. hydrophila* yang ditemukan pada organ hati dan ginjal (Gambar 2a dan 2b).

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, penambahan sumber karbon yang berbeda pada media bioflok terbukti mampu meningkatkan sintasan ikan lele. Yusup (2015) menyatakan bahwa laju sintasan ikan lele yang dipelihara pada media bioflok lebih tinggi (86,67 – 89,33%) dibandingkan yang tidak dipelihara pada media bioflok (50,65-75,33%). Tingginya laju sintasan ikan yang dipelihara pada media bioflok disebabkan pada media bioflok terdapat mikroorganisme seperti protozoa, rotifera, dan bakteri heterotrof (Azim *et al.* 2008) yang dapat menjadi sumber pakan bagi ikan sehingga dapat menekan sifat kanibalisme (Apriani 2015). Penambahan bakteri *Bacillus* sp. NP5 pada media bioflok diyakini juga dapat meningkatkan sintasan pada ikan. Hasil penelitian Widanarni *et al.* (2014) menunjukkan bahwa probiotik *Bacillus* NP5 mampu memperbaiki respons imun dan meningkatkan sintasan udang yang diinfeksi virus IMNV. Bakteri *Bacillus* sp. yang ditambahkan pada media bioflok menjadi penyusun bioflok dan diketahui dapat mengakumulasi senyawa

poly-β-hydroxybutyrate (PHB), bagian dari PHB mirip asam organik yang dapat memberikan efek menguntungkan bagi inang (Sinha *et al.* 2008).

Pada perlakuan molase, tapioka dan terigu menghasilkan nilai laju pertumbuhan harian yang lebih tinggi (5,64–5,96%) dan memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap perlakuan kontrol ($p < 0,05$). Nilai konversi pakan pada penelitian ini dihitung berdasarkan jumlah konsumsi pakan buatan yang diberikan setiap hari selama 30 hari pemeliharaan, sedangkan ikan diduga juga mengonsumsi flok yang terbentuk di media pemeliharaan. Nilai nisbah konversi pakan pada perlakuan dengan sumber karbon molase, tapioka, dan terigu lebih baik (0,49-0,53) dan memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap perlakuan kontrol ($p < 0,05$). Hasil ini selaras dengan hasil penelitian Apriani (2015) yang menyatakan bahwa pemberian sumber karbon berbeda pada media bioflok mampu meningkatkan laju pertumbuhan dan menekan nilai konversi pakan benih ikan patin. Hal ini karena bioflok tersusun dari kumpulan mikro-organisme seperti perfiton, fitoplankton, mikroba, dan protozoa yang dapat dijadikan sebagai sumber makanan cadangan bagi ikan (Avnimelech 2007). Hasil penelitian Najdegerami *et al.* (2015) menegaskan bahwa bioflok mengandung protein (asam amino), asam lemak tak jenuh, vitamin, dan mineral yang baik untuk ikan.

Jumlah konsumsi pakan ikan pada perlakuan molase, tapioka dan terigu menunjukkan nilai yang lebih besar (437,88-439,31 g) dan berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap perlakuan kontrol positif (308,35 g) yang dipelihara tanpa menggunakan teknologi bioflok dengan diinfeksi *A. hydrophila*. Menurunnya jumlah konsumsi pakan pada ikan kontrol positif diduga disebabkan ikan dalam kondisi stres akibat adanya infeksi bakteri patogen *A. hydrophila* sehingga

mengurangi nafsu makan pada ikan. Hal ini dapat dilihat dari jumlah bakteri patogen *A. hydrophila* yang ditemukan pada organ hati dan ginjal (Gambar 2).

Meningkatnya nilai retensi protein pada ikan yang dipelihara pada media bioflok diduga disebabkan oleh adanya sumber makanan pada media bioflok yang dimanfaatkan oleh ikan sebagai sumber protein selain dari pakan sehingga lebih banyak protein yang dapat disintesis menjadi protein tubuh (Apriani 2015). Semakin tinggi nilai retensi lemak yang dihasilkan maka semakin tinggi lemak dari pakan yang tersimpan sebagai cadangan energi. Hal ini dipertegas oleh Bureau *et al.* (2002) yang menyatakan bahwa lemak dari pakan dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi yang penting bagi ikan sehingga protein yang dikonsumsi dari pakan dapat digunakan secara optimal untuk pertumbuhan ikan.

Penambahan sumber karbon berbeda memberikan pengaruh terhadap total bakteri dan *Bacillus* NP5 di usus ikan lele. Hal ini menunjukkan bahwa ikan mampu memanfaatkan flok yang ada di media sebagai sumber makanan. Hasil ini sesuai dengan Avnimelech (2007) yang menyatakan bahwa bioflok tersusun dari kumpulan mikroorganisme yang dapat dijadikan sebagai sumber makanan cadangan bagi ikan. Disamping itu keberadaan probiotik *Bacillus* NP5 di usus diduga dapat memberikan efek positif terhadap laju pertumbuhan dan konversi pakan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Putra (2010) yang menunjukkan bahwa *Bacillus* NP5 mampu meningkatkan aktivitas enzim pencernaan pada ikan sehingga dapat meningkatkan performa pertumbuhan ikan nila.

Simpulan

Penambahan sumber karbon molase, tepung tapioka, dan tepung terigu pada budi daya

ikan lele dengan sistem bioflok mampu menekan jumlah bakteri patogen *Aeromonas hydrophila* pada media pemeliharaan, meningkatkan respons imun, kinerja pertumbuhan, dan efisiensi pakan ikan lele. Nilai sintasan tertinggi diperoleh dari sumber karbon molase (89,44%) yang berbeda nyata dengan kontrol positif dan kontrol negatif.

Daftar pustaka

- Agung LA. 2015. Aplikasi mikrokapsul probiotik *Bacillus* NP5 dan prebiotik Mannanoigosakarida untuk pencegahan Streptococcosis pada ikan nila. *Tesis*. Program Pasca sarjana Institut Pertanian Bogor. 51 p
- Agustinus F, Widanarni, Ekasari J. 2010. Microbial abundance and diversity in water, and immune parameters of red tilapia reared in bioflocs system with different fish density (25 fish/m³, 50 fish/m³ and 100 fish/m³). *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 9(2): 157-167
- Anand PSS, Kohli MPS, Kumar S, Sundaray JK, Dam Roy S, Venkateshwarlu G, Sinha A, Pailan GH. 2014. Effect of dietary supplementation of biofloc on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. *Aquaculture*. 418-419: 108-115.
- Anderson DP, Siwicki AK. 1995. Basic haematology and serology for fish health programs. *in*: Shariff M, Arthur JR, Subasinghe RP (Eds). *Diseases in Asian Aquaculture II*. Fish Health Section, Asian Fisheries Society. Manila. Philippines. pp 185-202.
- Apriani I, Setiawati M, Budiardi T, Widanarni. 2016. Produksi yuwana ikan patin *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage 1878) pada sistem budi daya berbasis bioflok dengan penambahan sumber karbon berbeda. *Jurnal Iktiologi Indonesia*. 16(1): 75-90
- Avnimelech Y. 2007. Feeding with microbial floes by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. *Aquaculture* 264 (1-4): 140-147
- Avnimelech Y. 2012. *Biofloc Technology - A Practical Guide Book, 2nd ed.* The World Aquaculture Society. Baton Rouge. Louisiana. USA. 272 p
- Azim ME, Little DC, Bron JE. 2008. Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C:N ratio in fed and

- the impilcation for fish culture. *Biore-source Technology*, 99(9): 3590-3599.
- Blaxhall PD, Daisley KW. 1973. Routine haemological methods for use with blood fish. *Journal of Fish Biology*, 5(6): 771-781.
- Bureau DP, Kaushik SJ, Cho CY. 2002. Bioenergetics. In: Halver JE, Hardy RW (eds). 2002. *Fish Nutrition, Third Edition*. Academic Press. London. p 1-59
- Chamberlain G, Avnimelech Y, Mcintosh RP, Velasco M. 2001. Advantages of aerated microbial reuse systems with balanced C:N. *Feed Utilization Global Aquaculture Alliance*. USA. 53-56 p
- Chirilia F, Fit N, Nadas G, Negrea O, Ranga R. 2008. Isolation and characterization of an *Aeromonas hydrophila* strain in carp (*Cyprinus carpio*) toxemia focus. *Veterinary Medicine Bulletin UASVM, Veterinary Medicine*, 65(1): 244-247.
- Clesceri LS, Greenberg AE, Eaton AD. 1999. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20th ed. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. Washington DC (US). 2671p.
- Crab R, Chielens B, Wille M, Bossier P, Verstraete W. 2010a. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquaculture Research*. 41(4): 559-567
- Crab R, Lambert A, Defoirdt T, Bossier P, Verstraete W. 2010b. The application of bioflocs technology to protect brine shrimp (*Artemia franciscana*) from pathogenic *Vibrio harveyi*. *Journal of Applied Microbiology*, 109(5): 1643-1649.
- De Schryver P, Crab R, Defoirdt T, Boon N, Verstraete W. 2008. The basics of bioflocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture*, 277(3-4): 125-137.
- Defoirdt T, Halet D, Vervaeren H, Boon N, Van de Wiele T, Sorgeloos P, Bossier P, Verstraete W. 2007. The bacterial storage compound of poly- β -hydrobutyrate protects *Artemia fransiseana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. *Environmental Microbiology*, 9(2): 445-452.
- Defoirdt T, Thanh LD, Delsen BV, De Schryver P, Sorgeloos P, Boon N, Bossier P. 2011. N-acylhomoserine lactone-degrading *Bacillus* strains isolated from aquaculture animals. *Aquaculture*, 311(1-4): 258-260.
- Divyagnaneswari M, Chrstybapita D, Dinakaran MR. 2007. Enhancement of non specific immunity and disease resistance in *Oreochromis mossambicus* by *Solanum trilobatum* leaf fractions. *Fish and Shellfish Immunology*, 23(2): 249-259.
- Ekasari J. 2009. Teknologi bioflok: Teori dan aplikasi dalam perikanan budidaya sistem intensif. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 8(2): 117-126
- Ekasari J, Azhar MH, Surawidjaja EH, Nuryati S. 2014. Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources. *Fish and Shellfish Immunology* 41(2): 332-339.
- Goddard S. 1996. *Feed Management in Intensive Aquaculture*. Chapman and Hall, New York. 194 p
- Hardi EH, Catur AP, Triesna H, Rizki TH. 2014. Infeksi *Aeromonas hydrophila* melalui jalur berbeda pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di Loa Kulu Kutai Kartanegara Kalimantan Timur. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 8(2): 130-133.
- Huisman EA. 1987. *The principles of Fish Culture Production*. Development of Aquaculture. Wageningen University. Netherland 100 p
- Kim SK, Pang Z, Seo HC, Cho YR, Samocha T. 2014. Effect of bioflocs on growth and immune activity of pasific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* postlarvae. *Aquaculture Research*, 45(2): 362-371.
- Madigan MT, Martinko JM, Bender KS, Buckley DH, Stahl DA. 2014. *Brock Biology of Microorrganisms, Fourteenth Edition*. Pearson. Boston. USA. 1032 p.
- Najdegerami EH, Bakhshi F, Lakani FB. 2015. Effect of biofloc on growth performance, digestive enzyme activities and liver histology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings in zero-water exchange system. *Fish Physiology and Biochemistry*, 42(2): 457-465
- O'Toole PW, Cooney JC. 2008. Probiotic bacteria influence the composition and function of the intestinal microbiota. *Interdisciplinary Prespectives on Infectious Diseases*. 2008: 1-9
- Purnomo PD. 2012. Pengaruh penambahan karbohidrat pada media pemeliharaan terhadap produksi budidaya intensif nila (*Oreochromis niloticus*)

- ochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 1(1): 161-179.
- Putra AN. 2010. Kajian probiotik, prebiotik dan sinbiotik untuk meningkatkan kinerja pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Tesis*. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. 91 hm
- Sinha AK, Baruah K, Bossier P. 2008. Horizon Scanning: the potential use of biofloc as an anti-infective strategy in aquaculture – an overview. *Aquaculture Health International* 13: 8-10
- Takeuchi T. 1988. Laboratory Work chemical evaluation of dietary nutrients. In: Watanabe T (ed). *Fish Nutrition and Mariculture*. Department of Aquatic Bioscience, Tokyo University of Fisheries. p 179-225.
- Tamam dusturi R. 2015. Pemberian mikrokapsul probiotik *Bacillus* sp. NP5 dan prebiotik mannanoligosakarida untuk pencegahan infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan patin (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Tesis*. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. 23 p
- Wedemeyer G, Yasutake WT. 1977. Clinical methods for the assessment of the effects of environmental stress on fish health. *Technical Paper*, Vol. 89. pp 1-18. U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Washington DC. USA.
- Widanarni, Yuhana M, Muhammad A. 2014. *Bacillus* NP5 improves growth performance and resistance against infectious myonecrosis virus in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Ilmu Kelautan*, 19(4): 211-218.
- Vivas J, Carracedo B, Rian J, Razquin BE, Lopez-Fierro P, Acosta F, Naharro G, Villena AJ. 2004. Behavior of an *Aeromonas hydrophila* aro A live vaccine in water microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(5): 2702–2708
- Xu WJ, Pan LQ. 2013. Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input. *Aquaculture*, 412–413: 117–124.
- Yousr AH, Napis S, Rusul GRA, Son R. 2007. Detection of aerolysin and hemolysin genes in *Aeromonas* spp. Isolated from environmental and shellfish sources by polymerase chain reaction. *ASEAN Food Journal*, 14(2): 115-122
- Yusup MW. 2015. Kinerja pertumbuhan ikan lele (*Clarias* sp.) dalam budi daya superintensif berbasis bioflok dengan penambahan probiotik *Bacillus* sp. *Tesis*. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. 31p