

Kelimpahan dan keragaman jenis bakteri dalam air dan parameter imunitas ikan nila merah yang dipelihara dalam sistem bioflok dengan kepadatan ikan yang berbeda (25 ekor/m³, 50 ekor/m³, dan 100 ekor/m³)

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)

Frid Agustinus, Widanarni, Julie Ekasari*

*Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Darmaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia, Telp. +62 251 8628755, Fax. +62 251 8622941
E-mail: j_ekasari@ipb.ac.id

ABSTRACT

The objective of this experiment was to study microbial abundance and diversity in the water, and immune parameters of red tilapia *Oreochromis* sp. cultured in bioflok system with different fish stocking densities. The experiment comprised of two different factors, carbon source addition (bioflocs and control), and fish stocking density (25 fish/m³, 50 fish/m³, dan 100 fish/m³), with an experimental period of 99 days. Microbial load in water was determined biweekly, whereas immune parameters represented by fish blood profile were measured on day 0, 50, and 90. There was no significant difference in total bacteria count in the water of all treatments; there was however a tendency shown by all treatments that the microbial load in water increased along with the culture period. There were 4 genera of bacteria which particularly found in bioflok system, which are *Acinetobacter* sp., *Corynebacterium* sp., *Listeria* sp., dan *Pseudomonas* sp., and are suggested to play a role in bioflok formation. The percentage of phagocytic index of fish in bioflok system was higher than that in control, and may indicate that bioflok may stimulate the fish immune system.

Keywords: bioflocs, red tilapia, bacteria, blood profile.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kelimpahan dan keragaman jenis bakteri dalam air dan parameter imunitas ikan nila *Oreochromis* sp. yang dipelihara dalam sistem bioflok dengan kepadatan ikan yang berbeda. Penelitian terdiri atas dua faktor perlakuan yaitu penambahan sumber carbon (bioflok dan kontrol), dan padat penebaran ikan (25 ekor/m³, 50 ekor/m³, dan 100 ekor/m³) dengan lama waktu pemeliharaan ikan selama 99 hari. Kelimpahan bakteri diukur setiap 2 minggu sekali selama masa pemeliharaan. Parameter imunitas meliputi gambaran darah diukur dengan pengambilan contoh darah yang dilakukan pada tiga ekor ikan pada hari ke 0, 50, dan 99. Kelimpahan bakteri pada semua perlakuan pada setiap titik pengamatan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Semua perlakuan menunjukkan kecenderungan peningkatan kelimpahan bakteri seiring dengan masa pemeliharaan. Terdapat 4 genus bakteri yang hanya ditemukan pada kolam bioflok yaitu *Acinetobacter* sp., *Corynebacterium* sp., *Listeria* sp., dan *Pseudomonas* sp yang diduga berperan dalam pembentukan bioflok. Persentase indeks fagositik pada ikan dengan perlakuan bioflok lebih tinggi dibanding kontrol, yang mengindikasikan peran bioflok sebagai stimulus sistem imun.

Kata kunci: bioflok, nila merah, bakteri, gambaran darah.

PENDAHULUAN

Ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) merupakan salah satu komoditas perikanan air tawar yang sudah cukup dikenal masyarakat. Dari aspek pasarnya, ikan nila

merah juga merupakan komoditas ekspor khususnya ke Singapura, Jepang dan Amerika Serikat sebagai substitusi ikan kakap merah yang sangat digemari oleh masyarakat di negara tersebut. Pada tahun 2010, Kementerian Kelautan dan Perikanan

(KKP) menargetkan peningkatan produksi ikan nila sebanyak 45,93% (KKP, 2010). Sehingga perlu penerapan sistem budidaya secara intensif bahkan super-intensif untuk meningkatkan hasil produksi ikan nila.

Menurut Avnimelech (2007) ada pendekatan baru untuk meningkatkan produktivitas akuakultur melalui peningkatan kelangsungan hidup, efisiensi pakan dan pertumbuhan ikan serta penurunan limbah kegiatan akuakultur yaitu teknologi bioflok (BFT-*Bioflocs technology*). Bioflok merupakan suspensi yang terdapat di dalam air yang terdiri dari fitoplankton, bakteri, agregat hidup, bahan organik dan pemakan bakteri (Hargreaves, 2006; Avnimelech, 2007). Prinsip utama yang diterapkan dalam teknologi ini adalah manajemen kualitas air yang didasarkan pada kemampuan bakteri heterotrof untuk memanfaatkan nitrogen baik organik maupun anorganik yang terdapat dalam air (Ekasari, 2009). Pada teknologi bioflok, nitrogen anorganik dapat dikonversi menjadi biomassa mikroba melalui penambahan karbon organik pada rasio karbon nitrogen (C/N) tertentu. Pada C/N rasio >10 bakteri heterotrof akan memanfaatkan nitrogen baik dalam bentuk organik maupun anorganik. Biomassa bakteri heterotrof kemudian akan membentuk agregat (flok) bersama dengan mikroba lain, yang selanjutnya dimanfaatkan oleh organisme budidaya. Adanya proses daur ulang nutrisi oleh mikroba menyebabkan efisiensi pemanfaatan nutrisi dalam pakan meningkat.

Defoirdt *et al.*, (2007) menyatakan bahwa bioflok dapat meningkatkan tingkat kelangsungan hidup *Artemia franciscana* dari serangan luminescent vibriosis karena mengandung *poly-β-hydroxybutyrate* (PHB). PHB merupakan polimer intraselular yang dihasilkan berbagai jenis mikroorganisme yang berfungsi sebagai cadangan energi untuk metabolisme ketika sumber energi habis. Selain itu De Schryver *et al.* (2008) mengatakan bioflok dapat berfungsi sebagai agen biokontrol patogen dan dapat berfungsi sebagai prebiotik yang dapat meningkatkan sistem imun ikan.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kelimpahan dan keragaman bakteri dalam media pemeliharaan dan kinerja sistem

imun ikan nila merah yang dipelihara dengan sistem bioflok dengan kepadatan yang berbeda.

BAHAN DAN METODE

Persiapan kolam budidaya

Penelitian dilakukan pada bak beton berukuran (3x2x0,7)m³. Sebelum digunakan, kolam dibersihkan dan dikeringkan selama 1-2 hari kemudian diisi air hingga ketinggian 50cm. Setelah itu pada kolam perlakuan bioflok dilakukan pemberian 10 mg/l N dalam bentuk NH₄Cl dan 1,8 mg/l P dalam bentuk KH₂PO₄ serta 25 mg/l C dalam bentuk molase dan dibiarkan tergenang dengan tetap diberikan aerasi selama seminggu sebelum benih ikan ditebar dengan tujuan menumbuhkan bioflok terlebih dahulu. Pemberian aerasi dilakukan pada 16 titik dan 24 titik berturut-turut untuk minggu 1-8 dan 9-14.

Pemeliharaan ikan uji

Benih ikan nila merah ukuran 77,89±3,71 g per ekor ditebar dengan kepadatan 25 ekor/m³, 50 ekor/m³ dan 100 ekor/m³ sesuai perlakuan. Benih diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar (BBPBAT) Sukabumi. Selama pemeliharaan, ikan diberi pakan pelet (kadar protein 32%) dengan frekuensi pemberian pakan 3 kali sehari secara *at satiation*. Pemeliharaan dilakukan selama 99 hari dengan sistem *minimum water exchange*. Penambahan molase dilakukan setiap hari dengan konsentrasi disesuaikan dengan jumlah N dari pakan yang dimasukkan sehingga C/N rasio dalam air diperkirakan mencapai 15 (De Schryver *et al.* 2008). Secara lengkap perlakuan pemeliharaan ikan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- BFT 75 : Kepadatan 25 ekor/m³ dengan penambahan molase
- K 75 : Kepadatan 25 ekor/m³ tanpa penambahan molase
- BFT 150 : Kepadatan 50 ekor/m³ dengan penambahan molase
- K 150 : Kepadatan 50 ekor/m³ tanpa penambahan molase
- BFT 300 : Kepadatan 100 ekor/m³ dengan penambahan molase

K 300 : Kepadatan 100 ekor/m³ tanpa penambahan molase

Parameter pengamatan

Selama pemeliharaan dilakukan analisis mikrobiologi dan hematologi. Analisis mikrobiologi meliputi kelimpahan dan identifikasi bakteri dalam media pemeliharaan, sedangkan analisis hematologi meliputi total leukosit, differensial leukosit, indeks fagositik, dan total eritrosit.

Identifikasi bioflok

Identifikasi bakteri dominan dilakukan berdasarkan karakter fisiologi dan biokimia (Cowan & Steel, 1974). Perhitungan kelimpahan bakteri dalam media pemeliharaan setiap 2 minggu sekali. Air sampel diambil dari kolom air dengan sedikit pengadukan menggunakan botol film. Setelah itu dilakukan penghitungan kelimpahan bakteri dengan menggunakan metode cawan sebar. Air sampel diencerkan melalui pengenceran berseri 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, dan seterusnya, lalu disebar ke dalam cawan petri, diinkubasikan selama 24 jam, dan dihitung jumlah koloni yang terbentuk. Kemudian total bakteri pada media pemeliharaan dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Total Bakteri} = \Sigma \text{koloni} \times \frac{1}{fp} \times \frac{1}{\text{mL sampel}}$$

Keterangan : *fp* = faktor pengenceran

Parameter hematologi

Pemeriksaan kesehatan ikan dilakukan melalui pengamatan kondisi hematologi. Parameter hematologi yang diukur meliputi total leukosit (Blaxhall & Daisley, 1973), differensial leukosit (Svobodova & Vykusova, 1991), indeks fagositik (Anderson & Siwicki, 1993), dan total eritrosit (Blaxhall & Daisley, 1973). Pengambilan darah dilakukan pada hari ke-0, hari ke-50 dan hari ke-99.

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan rancangan acak kelompok faktorial dengan selang kepercayaan 95%.

Untuk melihat perbedaan perlakuan maka dilakukan uji lanjut dengan uji *Duncan's Multiple Range* dengan menggunakan program komputer SAS V9.1. Analisa ragam hanya dilakukan pada perlakuan kepadatan 25 ikan/m³ dan 50 ikan/m³, sedangkan untuk kepadatan 100 ikan/m³, analisa data dilakukan secara deskriptif karena tidak dilakukan ulangan akibat keterbatasan tempat.

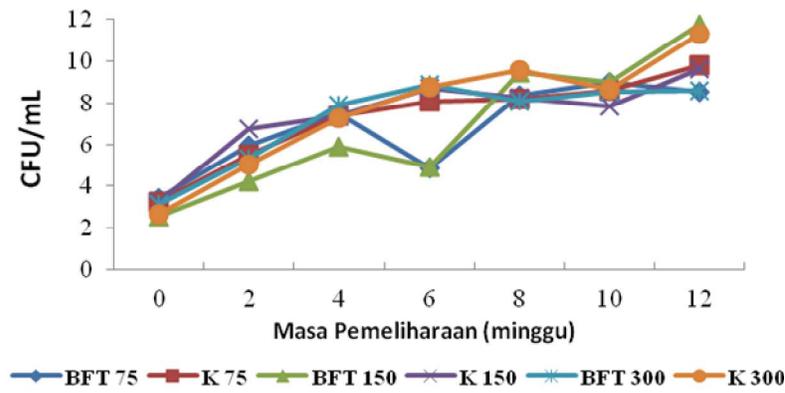
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Kelimpahan dan jenis bakteri

Kelimpahan bakteri pada media pemeliharaan menunjukkan hasil yang cenderung naik seiring dengan bertambahnya masa pemeliharaan, kecuali pada minggu ke-6 dimana bakteri pada perlakuan BFT 75 dan BFT 150 mengalami penurunan kelimpahan yang cukup tajam (Gambar 1). Secara umum, kelimpahan bakteri untuk semua perlakuan pada awal pemeliharaan hampir sama, berkisar antara 10² hingga 10³ CFU/ml, namun pada akhir pemeliharaan terjadi peningkatan hingga 10⁸-10¹² CFU/ml, dan ini terjadi baik pada perlakuan bioflok maupun kontrol.

Selain terhadap kelimpahan, bakteri yang tumbuh dominan (tumbuh pada pengenceran terendah) pada setiap pengambilan sampel diidentifikasi berdasarkan morfologi koloni dan sel serta sifat fisiologi dan biokimia. Hasil identifikasi terhadap 37 isolat bakteri, baik pada perlakuan bioflok maupun kontrol diperoleh 11 genus bakteri yaitu *Enterobacter* sp., *Bacillus* sp., *Streptococcus* sp., *Acinetobacter* sp., *Kurthia* sp., *Eubacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Corynebacterium* sp., *Alcaligenes* sp., *Staphylococcus* sp., *Listeria* sp. (Tabel 1) Secara umum, jenis bakteri yang tumbuh pada kolam bioflok lebih beragam dibanding kontrol, selain itu terdapat 4 genus bakteri yang hanya ditemukan pada kolam bioflok yaitu *Acinetobacter* sp., *Corynebacterium* sp., *Listeria* sp., dan *Pseudomonas* sp.



Gambar 1. Kelimpahan bakteri pada media air pemeliharaan ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) yang dipelihara dengan teknologi bioflok (BFT) dan kontrol pada tingkat kepadatan berbeda (25, 50, 100 ekor/m³).

Tabel 1. Hasil identifikasi bakteri pada air media pemeliharaan ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) yang dipelihara dengan teknologi bioflok (BFT) dan kontrol pada tingkat kepadatan berbeda (25, 50, 100 ekor/m³)

Genus	BFT			Kontrol		
	75	150	300	75	150	300
<i>Acinetobacter</i> sp.	+	+	+	-	-	-
<i>Alcaligenes</i> sp.	+	+	-	+	+	-
<i>Bacillus</i> sp.	-	+	-	+	-	+
<i>Corynebacterium</i> sp.	+	-	-	-	-	-
<i>Enterobacteria</i> sp.	+	+	-	+	+	+
<i>Eubacterium</i> sp.	-	-	-	-	+	-
<i>Kurthia</i> sp.	-	+	-	-	+	+
<i>Listeria</i> sp.	+	-	+	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> sp.	+	+	+	-	-	-
<i>Staphylococcus</i> sp.	-	-	+	-	-	-
<i>Streptococcus</i> sp.	-	-	-	+	-	-

Hematologi Ikan

Sel darah putih (*leukosit*)

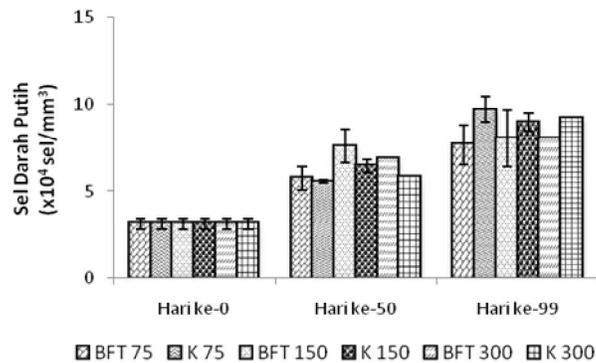
Hasil pengamatan jumlah sel darah putih pada hari ke-50 menunjukkan bahwa kepadatan memberi pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap jumlah sel darah putih (Gambar 2). Nilai tertinggi terdapat pada BFT 150 ($7,6 \times 10^4$ sel/mm³), sedangkan nilai terendah pada K 75 ($5,5 \times 10^4$ sel/mm³). Pada hari-99, pemberian molase juga memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0,05$) antara bioflok dan kontrol terhadap jumlah sel darah putih. Perlakuan bioflok mengalami perbaikan pada semua perlakuan yaitu BFT 75 ($7,7 \times 10^4$ sel/mm³), BFT 150 ($8,1 \times 10^4$ sel/mm³) dan BFT 300 ($8,0 \times 10^4$ sel/mm³), lebih rendah dibandingkan perlakuan kontrol yaitu K 75 ($9,7 \times 10^4$ sel/mm³),

K 150 ($8,9 \times 10^4$ sel/mm³) dan K 300 ($9,2 \times 10^4$ sel/mm³).

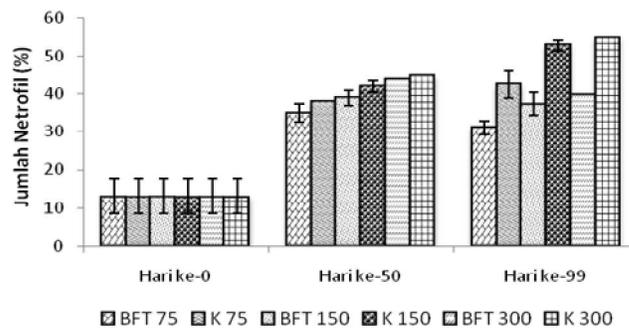
Diferensial leukosit

Hasil pengamatan pada hari-50 menunjukkan bahwa kepadatan memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap neutrofil dan jumlah sel darah putih, dimana semakin tinggi kepadatan semakin tinggi nilai neutrofil dan sel darah putih (Gambar 3).

Sedangkan pada hari ke-99, baik kepadatan maupun pemberian molase memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap jumlah neutrofil. Nilai neutrofil pada kontrol mengalami peningkatan sebesar 30,50% (K 75), 40% (K 150), 42% (K 300) dibandingkan perlakuan bioflok yaitu 18% (BFT 75), 24,33% (BFT 150), 26% (BFT 300).



Gambar 2. Jumlah sel darah putih ikan nila merah (*Oreochromis sp.*) yang dipelihara dengan teknologi bioflok (BFT) dan kontrol pada tingkat kepadatan berbeda (25, 50, 100 ekor/m³).



Gambar 3. Persentase jumlah neutrofil ikan nila merah (*Oreochromis sp.*) yang dipelihara dengan teknologi bioflok (BFT) dan kontrol pada tingkat kepadatan berbeda (25, 50, 100 ekor/m³).

Hasil pengamatan limfosit pada hari ke-50 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P > 0,05$) dengan kisaran 40-51%. Namun demikian hasil pengamatan pada hari ke-99 menunjukkan bahwa kepadatan dan pemberian molase memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap limfosit. Nilai limfosit pada BFT 75 (56%), BFT 150 (49%), BFT 300 (46%) mengalami peningkatan yang lebih tinggi dibandingkan kontrol, yaitu K 75 (44%), K 150 (32%) dan K 300 (31%) (Gambar 4).

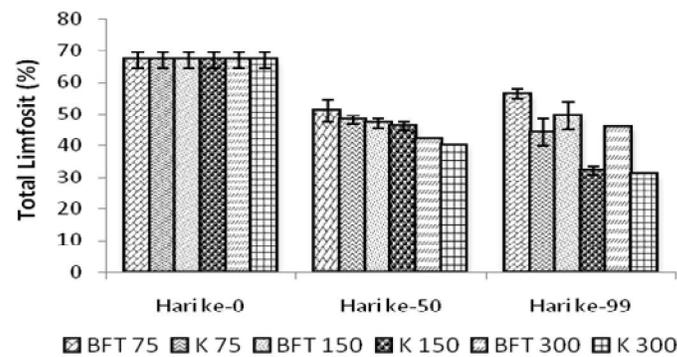
Hasil pengamatan monosit pada hari ke-50 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P > 0,05$) dengan kisaran antara 7-10 % (Gambar 5). Namun hasil pengamatan pada hari ke-99 menunjukkan bahwa kepadatan memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap jumlah monosit dengan nilai tertinggi pada K 150 dan BFT

300 yaitu 9% dan terendah pada BFT 75 dan K 75 yaitu 7%.

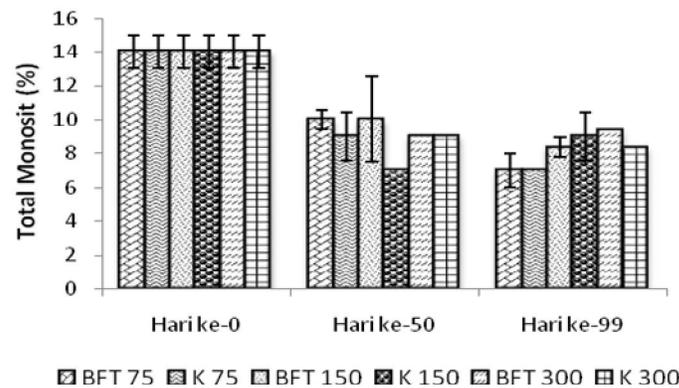
Hasil pengamatan trombosit pada hari ke-50 dan hari ke-99 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P > 0,05$) terhadap jumlah trombosit dengan kisaran 4-7% (Gambar 6).

Indeks fagositik

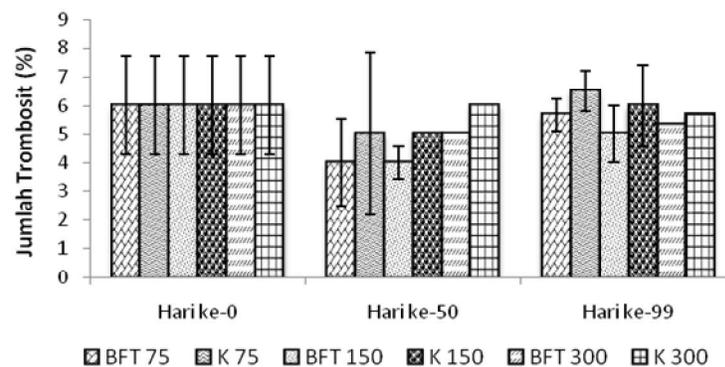
Hasil pengamatan pada hari ke-50 dan hari ke-99 menunjukkan bahwa pemberian molase memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap indeks fagositik. Pada hari ke-50, nilai indeks fagositik pada perlakuan bioflok mengalami peningkatan lebih besar (12-20%) dibandingkan kontrol (7-15%). Selanjutnya pada hari ke-99, persentase indeks fagositik perlakuan bioflok terus mengalami peningkatan dibandingkan kontrol, yaitu tertinggi pada perlakuan BFT 150 (30%) dan yang terendah pada perlakuan K 300 (16%) (Gambar 7).



Gambar 4. Persentase jumlah limfosit ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) yang dipelihara dengan teknologi bioflok (BFT) dan kontrol pada tingkat kepadatan berbeda (25, 50, 100 ekor/m³)



Gambar 5. Persentase jumlah monosit ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) yang dipelihara dengan teknologi bioflok (BFT) dan kontrol pada tingkat kepadatan berbeda (25, 50, 100 ekor/m³).



Gambar 6. Persentase jumlah trombosit ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) yang dipelihara dengan teknologi bioflok (BFT) dan kontrol pada tingkat kepadatan berbeda (25, 50, 100 ekor/m³).

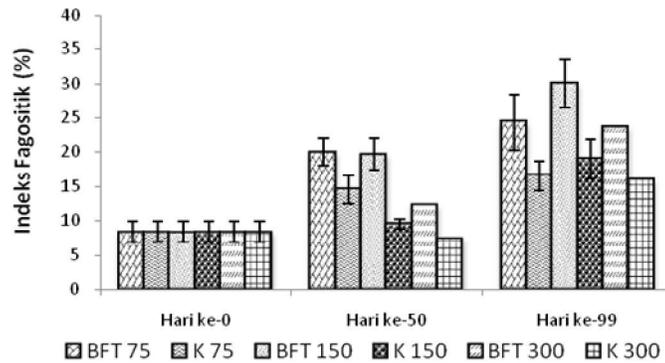
Sel darah merah (*eritrosit*)

Hasil pengamatan pada hari ke-50 dan hari ke-99 menunjukkan bahwa kepadatan dan pemberian molase tidak memberikan

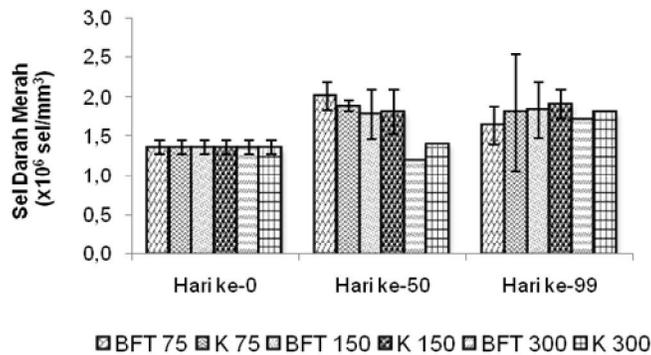
pengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap jumlah eritrosit dengan kisaran $1,4 \times 10^6$ - $2,0 \times 10^6$ sel/mm³ (Gambar 8). Hasil analisa gambaran darah ikan nila merah pada penelitian ini

menunjukkan bahwa N:L rasio mengalami peningkatan khususnya pada kontrol yaitu nilai tertinggi pada K 300 (1,13) dan nilai terendah pada BFT 75 (0,69). Hal ini juga nampak pada hari ke-99 yang menunjukkan

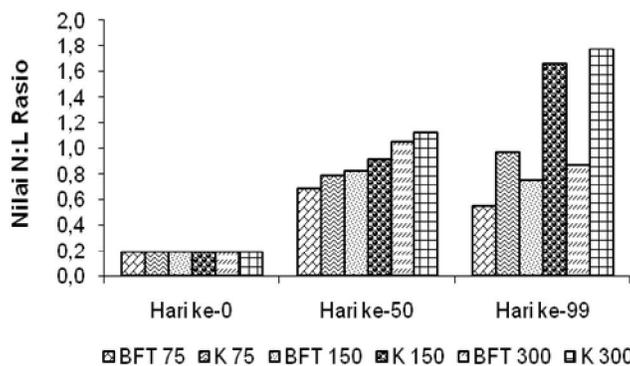
perlakuan kontrol lebih tinggi (Gambar 9) yaitu K 75 (0,97), K 150 (1,66), K 300 (1,77) dibandingkan BFT 75 (0,55), BFT 150 (0,76), BFT 300 (0,87).



Gambar 7. Persentase indeks fagositik ikan nila merah (*Oreochromis sp.*) yang dipelihara dengan teknologi bioflok (BFT) dan kontrol pada tingkat kepadatan berbeda (25, 50, 100 ekor/m³).



Gambar 8. Jumlah sel darah merah ikan nila merah (*Oreochromis sp.*) yang dipelihara dengan teknologi bioflok (BFT) dan kontrol pada tingkat kepadatan berbeda (25, 50, 100 ekor/m³).



Gambar 9. Persentase nilai N:L rasio ikan nila merah (*Oreochromis sp.*) yang dipelihara dengan teknologi bioflok (BFT) dan kontrol pada tingkat kepadatan berbeda (25, 50, 100 ekor/m³).

Pembahasan

Kinerja produksi dan kualitas air yang diamati dalam penelitian ini meliputi kelangsungan hidup, pertumbuhan spesifik, efisiensi pakan dipublikasikan pada berkala lain (Widanarni *et al.*, *submitted*) dengan kisaran masing-masing parameter sebagai berikut: 87,67%-97,78%; 0,51%-1,54%/hari; 44,15%-68,99%. Parameter kualitas air menunjukkan bahwa konsentrasi total amonia nitrogen pada perlakuan kontrol lebih tinggi (0,9-1,3 mg/l) dibandingkan perlakuan bioflok (0,4-0,6 mg/l). Hasil pengukuran suhu air pada semua bak perlakuan berkisar 28°C. Nilai DO menunjukkan kisaran 4,0-5,3 mg/l.

Hasil pengamatan kelimpahan bakteri pada perlakuan bioflok khususnya BFT 150 menunjukkan kecenderungan yang meningkat yakni dari 10^2 CFU/ml pada awal pengamatan menjadi 10^{12} CFU/ml pada akhir pengamatan. Hal serupa juga terjadi pada penelitian yang dilakukan oleh Rohmana (2009), bahwa kelimpahan bakteri pada perlakuan yang diberi molase mengalami peningkatan sebesar 10^7 CFU/ml dibandingkan kontrol sebesar 10^5 CFU/ml. Namun pola kelimpahan bakteri pada penelitian ini hampir sama baik pada bioflok maupun kontrol. Kelimpahan bakteri yang relatif sama antara perlakuan bioflok dan kontrol diduga karena bakteri yang tumbuh pada perlakuan bioflok lebih banyak dimakan oleh ikan dalam bentuk flok sehingga yang tersisa dalam air relatif sama dengan kontrol. Pola kelimpahan bakteri yang relatif sama diduga karena dari semua bakteri yang ada di lingkungan, hanya sekitar 1% saja yang dapat ditumbuhkan atau dikultur pada media buatan di laboratorium (Schulze *et al.*, 2006), sehingga pengamatan dengan pendekatan molekuler, baik untuk bakteri yang bisa dikultur atau tidak, akan dapat memberikan hasil yang lebih akurat.

Hasil identifikasi bakteri terhadap 37 isolat yang diperoleh menunjukkan ada 11 genus bakteri. Pada perlakuan bioflok ditemukan 4 genus bakteri yang tidak ditemukan pada perlakuan kontrol yaitu *Acinetobacter* sp., *Corynebacterium* sp., *Listeria* sp., *Pseudomonas* sp. Menurut Sterrit dan Lester (1988), bakteri

Acinetobacter sp., *Corynebacterium* sp. dan *Pseudomonas* sp. merupakan genus yang sering ditemukan dalam flok. Pada perlakuan bioflok, pertumbuhan bakteri mengalami peningkatan akibat peran penambahan molase sehingga menekan pertumbuhan fitoplankton.

Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa pada perlakuan bioflok tampak plankton berkumpul bersama bakteri (flok). Menurut Nuchsin (2007), bakteri dan plankton selalu berkaitan. Bakteri menguraikan senyawa organik menjadi nutrisi yang akan dimanfaatkan oleh fitoplankton untuk pertumbuhannya, sedangkan fitoplankton memberikan material organik untuk pertumbuhan bakteri sebagaimana yang dijelaskan oleh Avnimelech (2007) bahwa pada kolam dengan sistem bioflok, bakteri heterotrof dan alga ditumbuhkan bersama-sama dalam flok di bawah kondisi terkontrol pada kolam budidaya dengan zero atau minimal pertukaran air. Secara alami, plankton berkumpul diantara bakteri dan nanoflagelata heterotrof kira-kira 10-70% di bawah kolom air (Bloem *et al.*, 1989).

Hasil pengamatan hematologi ikan selama pemeliharaan menunjukkan bahwa jumlah sel darah putih semua perlakuan memiliki kecenderungan meningkat dengan semakin bertambahnya waktu pemeliharaan. Hasil pengukuran sel darah putih (leukosit) pada hari ke-50 menunjukkan bahwa kepadatan memberi pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap jumlah leukosit. Hasil pengamatan selanjutnya pada hari ke-99 menunjukkan bahwa jumlah leukosit pada kontrol lebih tinggi dibandingkan perlakuan bioflok yang mengindikasikan ikan kontrol mengalami stres.

Gambaran sel darah putih berhubungan langsung dengan differensial leukosit. Penyebab meningkatnya jumlah leukosit bisa disebabkan oleh peningkatan jumlah salah satu jenis leukosit (Dharmawan, 2002). Differensial leukosit meliputi neutrofil, limfosit, monosit dan trombosit. Hasil pengamatan terhadap neutrofil menunjukkan perlakuan kontrol memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan bioflok dimana baik kepadatan dan molase memberikan pengaruh yang berbeda nyata.

Semakin tinggi kepadatan ikan memperlihatkan semakin tinggi nilai neutrofil, yang menandakan ikan mengalami stres. Menurut Schalm *et al.* (1975), kortisol dapat merangsang peningkatan produksi neutrofil dari sumsum tulang di mana tubuh merespons adanya perubahan dengan melakukan proses adaptasi melalui peningkatan kadar neutrofil dalam darah.

Kannan (2000) melaporkan bahwa indeks stres dapat ditentukan dari perbandingan antara persentase neutrofil dan limfosit (N:L rasio) di mana hewan yang mengalami stres mempunyai N:L rasio lebih tinggi dibandingkan dengan hewan normal. Nilai N:L rasio mengalami peningkatan khususnya pada kontrol diduga disebabkan oleh stres yang mungkin disebabkan kondisi kualitas air dan kepadatan ikan. Menurut Kannan (2000), dalam kondisi stres akan terjadi peningkatan persentase neutrofil dan penurunan persentase limfosit. Tubuh memberikan respons terhadap stres dengan menghasilkan hormon glukokortikoid. Salah satu kerja dari hormon ini adalah dapat menurunkan jumlah persentase limfosit.

Hasil pengamatan monosit menunjukkan kecenderungan penurunan pada setiap perlakuan. Penurunan atau peningkatan monosit dapat menjadi salah satu indikasi infeksi penyakit. Namun demikian pengamatan secara visual pada tingkah laku dan morfologi ikan selama masa pemeliharaan tidak menunjukkan adanya gejala infeksi penyakit tertentu. Menurut Dellman & Brown (1989), monosit akan berperan sebagai makrofag dan banyak dijumpai pada daerah peradangan atau infeksi. Ellis *et al.* (1978) menyebutkan jumlah monosit dapat meningkat dalam waktu yang singkat (48 jam) setelah masuknya partikel asing ke dalam tubuh. Sedangkan nilai trombosit pada setiap perlakuan masih menunjukkan nilai yang stabil. Hal ini mungkin disebabkan ikan selama pemeliharaan tidak mengalami infeksi. Menurut Fujaya (2002), trombosit tidak umum berada dalam komponen darah pada kondisi yang normal namun apabila terjadi sesuatu yang mengejutkan, jumlah trombosit dapat meningkat tajam. Chinabut *et al.* (1991) menambahkan bahwa trombosit akan meningkat karena adanya hemoragi dan

tukak karena trombosit diproduksi agar darah dapat membeku dengan mengeluarkan trombloplastin yang menghasilkan enzim polimer dan fibrinogen.

Hasil pengamatan terhadap indeks fagositik menunjukkan bahwa perlakuan bioflok memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan kontrol, bahkan hasil uji statistik menunjukkan bahwa pemberian molase memberi pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap indeks fagositik. Hal ini diduga karena tingkat stres ikan pada perlakuan bioflok lebih rendah dibandingkan perlakuan kontrol. Menurut Endo *et al.* (2002), menurunnya tingkat stres pada ikan akan mempengaruhi rendahnya plasma kortisol, meningkatnya aktivitas fagositik pada makrofag dan tingginya produksi antibodi. Selain itu, diduga bioflok yang mengandung PHB dimakan oleh ikan dapat menjadi stimulus sistem imun pada ikan. Menurut Defoirdt *et al.* (2007), pemberian PHB pada *Artemia franciscana* dapat meningkatkan tingkat kelangsungan hidup *Artemia* dari serangan *luminescent vibriosis*, di mana PHB memberi manfaat di dalam usus epitelium untuk lebih resisten terhadap patogen dan juga menghambat pertumbuhan patogen. Nhan *et al.* (2010) menyatakan pemberian naupli *Artemia* yang mengandung PHB untuk makanan larva udang galah dapat meningkatkan kelangsungan hidup dan pertumbuhan larva udang galah dibandingkan kontrol. Meningkatnya indeks fagositik menunjukkan adanya peningkatan kekebalan tubuh, sebagaimana diungkapkan oleh Carver (1994), bahwa peningkatan kekebalan tubuh dapat diketahui dari peningkatan aktivitas sel fagosit dari hemosit. Proses fagositosis yang banyak ditemukan adalah ketika sel monosit atau neutrofil sedang memakan bakteri *Staphylococcus aureus* yang sengaja dicampurkan ke dalam darah pada saat pengamatan indeks fagositik.

Hasil secara deskriptif khususnya pada hari ke-99, jumlah sel darah merah ikan nila merah pada setiap perlakuan kontrol lebih tinggi dibandingkan perlakuan bioflok. Namun hasil uji statistik menunjukkan bahwa kepadatan dan pemberian molase tidak memberikan pengaruh yang nyata ($P > 0,05$) terhadap sel darah merah. Menurut Nabib

dan Pasaribu (1989) peningkatan eritrosit menunjukkan ikan tersebut dalam kondisi stress. Hasil statistik juga menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara variabel kepadatan dan pemberian molase terhadap jumlah sel darah putih (leukosit), nilai neutrofil, nilai limfosit, nilai monosit, nilai trombosit, nilai indeks fagositik, jumlah sel darah merah (eritrosit).

KESIMPULAN

Secara umum hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kelimpahan bakteri tidak dipengaruhi secara nyata oleh perlakuan bioflok, dan cenderung meningkat seiring dengan masa pemeliharaan. Empat genus bakteri *Acinetobacter* sp., *Corynebacterium* sp., *Listeria* sp., dan *Pseudomonas* sp hanya teridentifikasi pada perlakuan bioflok dan diduga berperan dalam pembentukan bioflok. Sementara itu persentase indeks fagositik pada ikan dengan perlakuan bioflok lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol, yang mengindikasikan peran bioflok sebagai stimulus sistem imun.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, D.P., Siwicki, A.K., 1993. Basic haematology and serology for fish health programs. Paper presented in second symposium on diseases in Asian aquaculture "aquatic animal health and the environment". Phuket, Thailand. 25-29 th Oktober 1993.
- Avnimelech, Y., 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture* 264, 140–147.
- Blaxhall, P.C., Daisley, K.W., 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *J. Fish Biology* 5, 771-781.
- Bloem, J., Ellenbroek, F.M., Bar-Gilissen, M.J.B., Cappenberg, T.E., 1989. Protozoan grazing and bacterial production in stratified Lake Vechten estimated with fluorescently labeled bacteria and by Thymidine incorporation. *Appl. Environ. Biology* 55 (7), 1787–1795.
- Carver, J.D., 1994. Dietary nucleotides: celluler immune, intestinal and hepatic system effect. *J. Nutrition* 124 (Suppl.1), S144-148.
- Chinabut, S., Limsuwan, C., Sawat, P.K., 1991. *Histology of the walking catfish Clarias batrachus*. Thailand: Department of Fisheries.
- Cowan, S., Steel, K., 1974. *Manual for the identification of medical bacteria 2nd eds*. Cambrige: Cambridge University Press. 161-180p.
- Defoirdt, T., Halet, D., Vervaeren, H., Boon, N., Van de Wiele, T., Sorgeloos, P., Bossier, P., Verstraete, W., 2007. The bacterial storage compound *poly- β -hydroxybutyrate* protects *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. *Environ. Microbiol.* 9, 445–452.
- Dellman, H.D., Brown, E.M., 1989. Buku teks histologi veteriner I. Hartono R. (Penerjemah) terjemahan dari *Textbook of veterinary histology*. Jakarta: UI Press.
- De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T, Boon, N., Verstraete, W., 2008. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture* 277, 125-137.
- Dharmawan, N.S., 2002. *Pengantar patologi klinik veteriner*. Cetakan II. Denpasar: Pelawa Sari.
- Ekasari, J., 2009. Teknologi bioflok: teori dan aplikasi dalam perikanan budidaya secara intensif. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 8 (2), 117-127.
- Ellis, A.E., Roberts, R.J., Tytler, P., 1978. *The anatomy and physiology of teleost. Fish Pathology*. London: Balliere Tindall. 13-54p.
- Endo, M., Kumahara, C., Yoshida, T., Tabata, M., 2002. Reduced stress and increased immune responses in Nile tilapia kept under self-feeding conditions. *Fisheries Science* 68, 253–257.
- Fujaya, Y., 2002. *Fisiologi ikan: dasar pengembangan teknologi perikanan*. Jakarta: Rineka Cipta. hlm 92.
- Hargreaves, J.A., 2006. *Photosynthetic suspended-growth systems in aqua-*

- culture. *Aquaculture Engineering* 34, 344–363.
- Kannan, T.H., 2000. Transportation of goats: effect on physiological stress response and live weight loss. *J. Animal Sci.* 78, 1450-1457.
- Nabib, R., Pasaribu, F.H., 1989. Patologi dan penyakit ikan, departemen pendidikan dan kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor. Bogor: UPT Produksi Media Informasi LSI-IPB.
- Nhan, D.T., Wille, M., De Schryver, P., Defoirdt, T., Bossier, P., Sorgeloos, P., 2010. The effect of *poly β-hydroxybutyrate* on larviculture of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture* 302, 76-81.
- Nuchsin, R., 2007. Distribusi vertikal bakteri dan kaitannya dengan konsentrasi klorofil-a di perairan Kalimantan Timur. *Makara Sains* 11(1), 10-15.
- Rohmana, D., 2009. Konversi limbah budidaya ikan lele, *Clarias* sp. menjadi biomassa bakteri heterotrof untuk perbaikan kualitas air dan makanan udang galah, *Macrobrachium rosenbergii* [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Schalm, O.W., Jain, N.C., Carrol., 1975. *Veterinary hematology* edisi 3rd eds. Philadelphia : Lae & Febiger. 340-470p.
- Sterritt, RM., Lester, J.N., 1988. *Microbiology for environmental and public health engineers*. Great Britain : St. Edmundsbury Press Ltd. 161p.
- Schulze, A.D., Alabi, A.O., Tattersall-Sheldrake, A.R., Miller, K.M., 2006. Bacterial diversity in a marine hatchery: Balance between pathogenic and potentially probiotic bacteria strains. *Aquaculture* 256, 50-73.
- Svobadova, Z., Vykusova, B., 1991. *Diagnostics, prevention and therapy of fish disease and intoxications*. Czechoslovakia: Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology Vodnany.