

Analisis *Environmental-DNA* (E-DNA) Untuk Estimasi Jumlah Total Bakteri Pada Air Kolam dengan Sistem *Recirculation Aquaculture System* (RAS)

Abdul Aziz Amin¹, Zulkisam Pramudia², Adi Tiya Yanuar¹, Yogita Ayu Dwi Susanti², Hideki Okuda³, Andi Kurniawan^{1*}

¹Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

²Pusat Studi Pesisir dan Kelautan Universitas Brawijaya

Jl. Veteran Ketawanggede Lowokwaru Kota Malang 65145 Jawa Timur

³Graduate School of Life Sciences Ritsumeikan University

*andi_k@ub.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.21107/rekayasa.v15i3.16844>

ABSTRACT

Catfish is an aquaculture commodity that has great potential to be developed in various regions in Indonesia. The success of catfish cultivation is primarily determined by creating a suitable environment for catfish. One way to create a suitable environment for catfish cultivation is the *Recirculation Aquaculture System* (RAS). In applying RAS, the presence of organic matter in the pond is controlled so the pond water can be reused. The presence of organic matter in pond water is determined mainly by the activity of bacteria in the water. These bacteria are actively involved in the pond's residual organic matter degradation process. Therefore, the total number of bacteria in the water can be one of the essential parameters in the RAS. The method widely used to calculate the abundance of bacteria is counting the number of bacteria based on bacterial culture method. However, the bacteria that can be cultured are only a small part of the bacteria in the water, so the abundance value obtained does not reflect the actual bacterial population. Therefore, it is necessary to analyze the abundance of bacteria using a method closer to the actual abundance value, such as the *environmental DNA* (eDNA) analysis. This study aims to analyze the abundance of bacteria in water in catfish aquaculture with RAS using the eDNA method. In addition, this study also analyzes water quality data (temperature, pH, Dissolved Oxygen). This study's results indicate that the water temperature value in catfish ponds ranges from 28.0 to 29.0 °C, the average pH value is 7.7, and the dissolved oxygen is between 5.7 - 6.2 mg/L. The water quality analysis results indicate that RAS can maintain optimum conditions in the catfish cultivation process. This study also showed that the total microbial abundance value at the beginning of cultivation was 1.68×10^7 cells/ml, and on day 30, it was 3.6×10^6 cells/ml. The dynamic of bacterial densities in this study may indicate that this system can maintain the stability of the microbial community.

Key words : total bacteria, eDNA, aquaculture, recirculation system, catfish

PENDAHULUAN

Salah satu komoditas akuakultur yang menunjukkan peningkatan produksi secara konsisten di Indonesia adalah budidaya ikan lele (Iswanto *et al.*, 2014). Budidaya ikan lele memiliki potensi besar sebagai komoditas untuk dikembangkan dalam bentuk pembenihan maupun pembesaran (Sahuleka *et al.*, 2020; Sudaryati *et al.*, 2017; Yuniar *et al.*, 2021). Produksi ikan lele di Indonesia meningkat dari 841,75 ribu ton pada tahun 2017 menjadi 1,81 juta ton pada tahun 2018 dengan pertumbuhan rata-rata produksi sebesar 56,32% (KKP, 2018). Dalam

proses budidaya ikan, siklus nutrisi merupakan komponen penting dalam degradasi bahan organik di dalam kolam. Siklus nutrisi ini dapat dioptimalkan sebagai kunci keberhasilan budidaya ikan. Pengaturan siklus nutrisi merupakan bagian penting dalam pengkondisian kolam agar sesuai bagi kehidupan ikan yang dipelihara (Alfia *et al.*, 2013). Pada sistem budidaya dengan padat penebaran tinggi yang menuntut pemberian pakan dalam jumlah tinggi, penumpukan bahan organik dalam kolam dapat meningkat dengan sangat pesat. Akumulasi bahan

Cite this as:

Amin, A.A., Pramudia, Z., Yanuar, A.T., Susanti, Y.A.D., Okuda, H & Kurniawan, A. (2022). *Analisis Environmental DNA (E-DNA) untuk Estimasi Jumlah Total Bakteri pada Air Kolam dengan Recirculation Aquaculture System (RAS)*. *Rekayasa* 15 (3). 368-374 pp.

doi: <https://doi.org/10.21107/rekayasa.v15i3.16844>.

© 2022 Amin

Article History:

Received: April, 9th 2022; **Accepted:** December, 10th 2022

Rekayasa ISSN: 2502-5325 has been Accredited by Ristekdikti (Arjuna) Decree: No. 23/E/KPT/2019 August 8th, 2019 effective until 2023

organik akan menyebabkan terjadinya pembentukan senyawa-senyawa yang beracun bagi ikan, sehingga mempercepat penurunan kualitas air. Pada kondisi jumlah air yang terbatas, penurunan kualitas air dapat lebih membahayakan kelangsungan hidup ikan. Oleh karena itu, berbagai upaya dilakukan untuk mempertahankan kualitas air kolam ini.

Sistem resirkulasi banyak digunakan untuk mempertahankan kualitas air kolam budidaya sehingga tetap layak bagi ikan. Dalam *Recirculation Aquaculture System* (RAS), air buangan dari proses pemeliharaan diolah agar dapat digunakan kembali dalam proses budidaya ikan (Alfia, et al., 2013). Sistem ini telah banyak dikembangkan dan diterapkan di berbagai negara, seperti Amerika Serikat, Israel, Singapura, Jerman serta Norwegia selama kurun waktu 20-30 tahun ini (Fadhil, 2010). Sistem RAS dengan teknik filtrasi dalam budidaya ikan merupakan salah satu upaya yang dapat diaplikasikan untuk menanggulangi penurunan kualitas air karena adanya akumulasi, mineralisasi dan nitrifikasi bahan organik di dalam air kolam budidaya ikan. Penggunaan sistem ini secara umum memiliki beberapa kelebihan yaitu, penggunaan air persatuan waktu relatif rendah, budidaya yang terkontrol dan lebih higienis, kebutuhan akan ruang atau lahan relatif kecil, kemudahan dalam mengendalikan, memelihara dan mempertahankan kualitas air (Helfrich dan Libey, 2000).

Aplikasi teknologi dengan Sistem RAS membantu proses budidaya ikan menjadi lebih terkontrol dan kadar sirkulasi makanan (*food circulation rate*) lebih rendah daripada sistem budidaya secara konvensional (Fadhil, 2010). Sistem RAS terdapat dalam berbagai bentuk, dari yang paling sederhana sampai yang otomatisasi berbasis *Internet of Things* (IoT) (Graber and Junge, 2009). Sistem resirkulasi pada prinsipnya adalah pengaturan penggunaan kembali air yang telah digunakan dalam kegiatan budidaya. Salah satu fokus utama pada sistem resirkulasi adalah pemindahan amonia zat hasil proses metabolisme ikan yang berbahaya bagi ikan. Sistem resirkulasi merupakan alternatif yang dapat digunakan pada budidaya intensif (Putra, et al., 2011). Suksesnya sistem resirkulasi terutama tergantung pada efektifitas sistem dalam menangani atau mengolah limbah budidaya terutama yang berupa limbah organik. Proses pengolahan limbah pada sistem

resirkulasi dapat berupa filtrasi fisik, filtrasi biologi dan filtrasi kimia (Sasongko, 2001).

Pada sistem RAS keberadaan mikroba akuatik akan sangat mempengaruhi keberhasilan proses budidaya yang dilakukan (Ekawati et al., 2021). Karakteristik komunitas mikroba banyak menentukan keberadaan bahan organik di ekosistem perairan (Kurniawan dan Fukuda, 2016; Kurniawan et al., 2018). Sistem resirkulasi dapat membuat kandungan oksigen (O_2) meningkat (Nirmala dan Djokosetyono, 2014). Hal ini akan mempengaruhi proses nitrifikasi yang memerlukan oksigen (O_2). Peningkatan kandungan oksigen (O_2) tersebut akan berdampak terhadap kepadatan bakteri yang terdapat pada air (Pramudia et al., 2022). Proses nitrifikasi terjadi karena proses oksidasi amonia menjadi nitrit dan oksidasi nitrit menjadi nitrat, atau oksidasi bahan organik secara langsung. Proses ini melibatkan bakteri nitrifikasi (Sohier dan Bianchi, 1995; Nagata et al., 2003). Keberhasilan sistem RAS akan sangat dipengaruhi jumlah bakteri yang ada di filter air. Oleh karena itu, penting untuk mengetahui jumlah total bakteri yang terdapat pada air sebagai media hidup dalam budidaya ikan lele termasuk yang mengaplikasikan sistem RAS.

Analisis jumlah populasi bakteri akuatik banyak dilakukan dengan memanfaatkan metode pengkulturan. Namun, bakteri yang dapat dikultur hanya sebagian kecil dari total bakteri yang ada di ekosistem perairan seperti kolam ikan (Kurniawan et al., 2019). Untuk mengatasi permasalahan ini, maka banyak dikembangkan metode analisis populasi mikroba dengan pendekatan molekuler. Metode perhitungan jumlah mikrobiologi yang paling umum adalah perhitungan total koloni. Namun, metode total perhitungan koloni terbatas pada estimasi kuantitatif bakteri yang dapat dikultur saja (O'Toole 2016; Gensberger et al., 2016). Untuk mengatasi masalah ini, Aoshima et al., (2006) memperkenalkan metode alternatif untuk menghitung jumlah bakteri di lingkungan berdasarkan biomassa DNA lingkungan (eDNA) dari komunitas bakteri. Metode ini menggunakan prinsip *low stirring method* untuk meminimalkan kerusakan DNA selama ekstraksi. Kuantifikasi jumlah bakteri dilakukan dengan menggunakan jumlah e-DNA yang diekstraksi. Metode ini memberikan cara yang lebih mudah untuk menghitung jumlah bakteri dibandingkan dengan

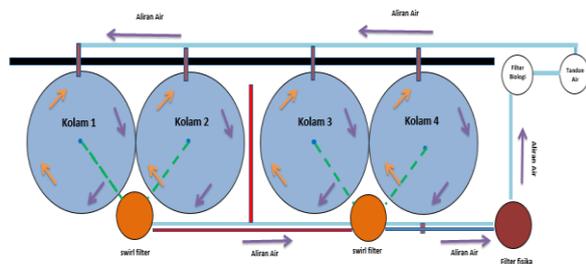
metode penghitungan langsung maupun perhitungan koloni.

Secara prinsip dasar, metode e-DNA adalah metode untuk menghitung jumlah bakteri yang didasarkan kepada keberadaan jumlah DNA. Metode e-DNA digunakan untuk menganalisis jumlah bakteri dengan menghitung jumlah DNA dalam sampel yang diambil langsung dari lingkungan. Analisis komunitas bakteri dengan metode e-DNA ini dapat meningkatkan pemahaman ekologi mikroba perairan dalam budidaya ikan. Hanya saja, studi yang menggunakan metode e-DNA dalam mengestimasi jumlah bakteri dalam budidaya ikan lele, terutama sistem RAS, masih sangat jarang dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis jumlah total bakteri pada air budidaya lele yang menerapkan sistem RAS dengan menggunakan metode environmental-DNA (e-DNA). Studi ini juga menganalisis parameter kualitas air untuk melihat apakah RAS yang diaplikasikan dapat menjaga kualitas air.

METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel

Penelitian ini dilakukan pada kolam budidaya lele dengan menggunakan Sistem Resirkulasi Akuakultur (RAS) di Kabupaten Tuban, Jawa Timur. Sistem resirkulasi yang digunakan menggunakan 3 unit resirkulasi (Gambar 1). Kolam yang digunakan adalah kolam bundar berbahan terpal dengan diameter 3 meter dan ketinggian air kurang lebih 1 meter. Desain konstruksi sistem RAS yang digunakan adalah mengacu pada (Ekawati, et al 2021). Filter yang digunakan adalah filter fisika dengan sistem *swirl filter* dan filter biologi dengan penggunaan *bioball filter*. Pengambilan sampel dalam penelitian ini dilakukan pada hari ke 0 dan hari ke 30 pada budidaya lele. Selain itu, parameter kualitas air harian selama proses budidaya juga dianalisis dalam studi ini.



Gambar 1. Sistem RAS Kolam Lele

Analisis Total Bakteri Dengan Metode eDNA

Jumlah total bakteri dalam air diperkirakan dengan menggunakan DNA lingkungan (eDNA) dengan metode pengadukan rendah (Aoshima et al. 2006). Satu ml sampel air dicampur dengan 8,0 mL buffer eDNA dan 1 mL larutan natrium dodesil sulfat (SDS) 20%. Dengan demikian, suspensi diaduk pada 1.500 rpm selama 20 menit, diikuti dengan sentrifugasi suspensi pada $6.000 \times g$ selama 10 menit. Supernatan dicampur dengan campuran kloroform-isoamil alkohol (24:1 (v/v)), dan disentrifugasi pada $18.000 \times g$ selama 10 menit. Asam nukleat kasar dilakukan dengan 500 L fase aqueous dan 300 L campuran isopropanol, kemudian disentrifugasi pada $18.000 \times g$ selama 20 menit. Sisanya dilarutkan dalam buffer $1 \times TE$ (10 mM Tris-HCl dan 1 mM EDTA, pH 8.0).

$$\text{Amount of eDNA} = \text{Amount of DNA in gel (ng)} \times \frac{\text{Total Volume of 10:1 TE buffer}}{\text{Amount of eDNA loaded } (\mu\text{l})} \times \frac{\text{Total volume of the solution } (\mu\text{l})}{2 \times \text{Amount of aqueous layer } (\mu\text{l})}$$

Kuantifikasi eDNA dilakukan berdasarkan intensitas pita setelah elektroforesis 1% gel agarosa menggunakan KODAK 1 D 3.6 Perangkat Lunak Analisis Gambar (Eastman Kodak Company, CT, USA). Persamaan untuk menentukan jumlah total bakteri adalah sebagai berikut:

$$\text{Number of cells /ml} = \text{eDNA amount } (\mu\text{l/ml}) \times 1.7 \times 10^8 [R^2 = 0.938]$$

Analisis Kualitas Air Harian

Pengukuran kualitas air dilakukan selama proses budidaya. Parameter pengukuran kualitas air meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut. Pengukuran dilakukan pagi (05.30 wib) dan sore hari (14.00 wib) selama proses budidaya.

HASIL PEMBAHASAN

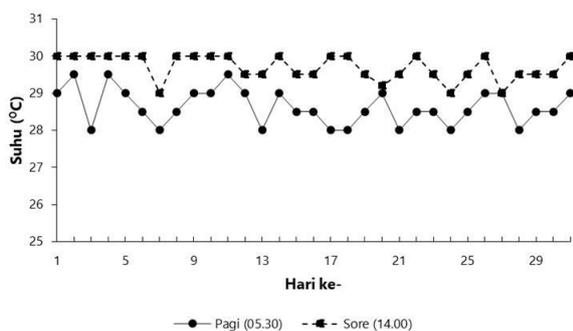
Kualitas Air

a. Suhu

Pengukuran suhu pada penelitian ini dilakukan dua kali sehari selama 30 hari yaitu pada waktu pagi hari dan sore hari. Hasil menunjukkan bahwa rata-rata suhu di kolam pemeliharaan selama penelitian antara $28-29^{\circ}\text{C}$ (Gambar 2). Suhu rata-rata pada pagi hari di kolam yaitu 28°C , dan suhu rata-rata pada sore hari di kolam yaitu 29°C . Jika dilihat perbedaan suhu pada pagi hari dan sore hari maka sedikit lebih tinggi suhu pada sore hari. Hal ini dikarenakan pengukuran suhu di pagi hari dilakukan sebelum adanya sinar matahari dan pengukuran suhu di sore hari masih terpapar sinar

matahari sehingga menyebabkan suhu di perairan meningkat.

Pada penelitian ini, hasil pengukuran suhu selama 30 hari pemeliharaan masih berada dalam kisaran toleransi yang baik untuk ikan lele. Hal ini sesuai pernyataan Sastrawijaya (2009), suhu mempunyai pengaruh yang besar terhadap kelarutan oksigen. Ikan lele memiliki suhu optimum berkisar 25-32°C, jika suhu berbeda jauh dari kisaran optimumnya dapat mengakibatkan ikan akan mati atau mengakibatkan berpengaruh terhadap tingkat pertumbuhan. Fluktuasi suhu selama penelitian menunjukkan hasil yang cenderung stabil dan tidak mengalami kenaikan maupun penurunan yang signifikan. Hal ini dikarenakan sistem resirkulasi yang menyebabkan air teraduk merata sehingga fluktuasi suhu permukaan air dan dasar perairan kolam cenderung sama. Hal ini sesuai pernyataan Lesmana (2001), bahwa sistem resirkulasi dalam pemeliharaan ikan akan memberikan beberapa keuntungan antara lain: 1) membantu menjaga keseimbangan biologi dalam air, yaitu dapat membantu mencegah berkumpulnya ikan atau pakan alami di suatu tempat, 2) menjaga kestabilan suhu, terutama pada pemakaian pemanas (heater), 3) membantu distribusi oksigen ke segala arah, baik di dalam air maupun difusinya dengan udara, 4) menjaga akumulasi atau berkumpulnya sisa metabolit beracun sehingga kadar atau daya racun dapat ditekan.

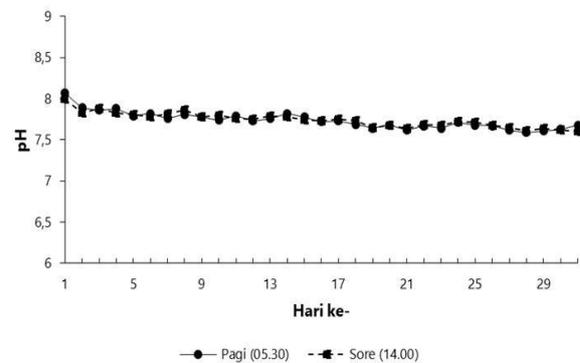


Gambar 2. Grafik Pengamatan Suhu Rata-Rata

b. Derajat Keasaman (pH)

Pengukuran pH pada penelitian ini dilakukan dua kali sehari selama 30 hari yaitu pada waktu pagi hari dan sore hari. Hasil menunjukkan bahwa rata-rata pH di kolam pemeliharaan selama penelitian yaitu 7,7 (Gambar 3). Nilai pH rata-rata pada pagi hari yaitu 7,7. pH rata-rata pada sore hari 7,7 Kisaran pH selama penelitian masih dalam

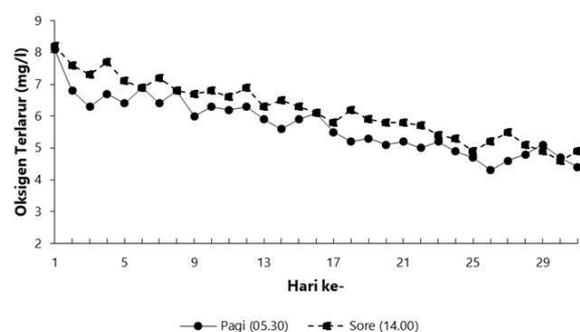
kisaran optimum untuk pemeliharaan ikan lele. Hal ini sesuai pernyataan Mahyudin (2008), yang menyatakan bahwa nilai pH yang dianjurkan untuk pemeliharaan ikan lele dumbo berkisar antara 6,5-8,5.



Gambar 3. Grafik Pengamatan pH

c. Oksigen Terlarut

Pengukuran oksigen terlarut pada penelitian ini dilakukan dua kali sehari selama 30 hari yaitu pada waktu pagi hari dan sore hari. Hasil menunjukkan bahwa rata-rata oksigen terlarut di kolam pemeliharaan selama penelitian antara 5,7 - 6,2 mg/L (Gambar 4). Oksigen terlarut rata-rata pada pagi hari di kolam yaitu 5,7 mg/L. Oksigen terlarut rata-rata pada sore hari yaitu 6,2 mg/L. Hasil pengukuran ini merupakan kisaran nilai yang optimal untuk pemeliharaan ikan lele dumbo (*C. gariepinus*), karena menurut Aji et al. (2014) menyatakan bahwa oksigen terlarut optimum untuk pemeliharaan ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) adalah kisaran 4,9-5,79 mg/l, namun ikan lele dumbo masih mampu bertahan hidup pada kisaran oksigen terlarut yang rendah.



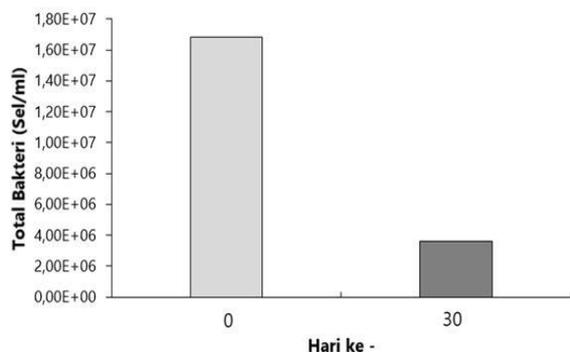
Gambar 4. Grafik Pengamatan Oksigen Terlarut

Hal ini didukung dengan pernyataan Kristanti (2014), bahwa beberapa jenis ikan yang mempunyai alat pernafasan tambahan seperti arborescent organ pada lele dumbo masih bisa bertahan pada konsentrasi oksigen terlarut <3

mg/l. Hal ini dikarenakan ikan dapat langsung mengambil oksigen bebas di udara dengan menyembul ke permukaan air.

Total Bakteri

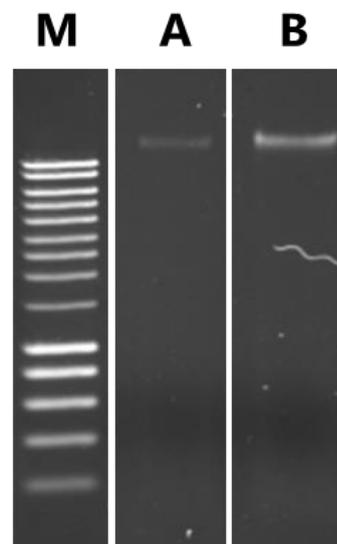
Kelimpahan bakteri dalam air dalam budidaya lele dengan RAS dianalisis dalam penelitian ini (Gambar 5). Analisis ini dilakukan dengan perkiraan jumlah bakteri dengan memanfaatkan jumlah eDNA yang diisolasi dari sampel lingkungan (Gambar 6). Kualitas air pada kondisi budidaya ikan tidak lepas dari kelimpahan bakteri di perairan (Ni, M et al. 2021). Hasil analisis eDNA menunjukkan jumlah kelimpahan bakteri pada awal budidaya adalah $1,68 \times 10^7$ sel/ml, dan pada hari ke 30 menjadi $3,6 \times 10^6$ sel/ml. Hasil ini menunjukkan kepadatan bakteri cenderung berkurang dalam kolam RAS walaupun beban bahan organik bertambah. Pada RAS air kembali dimasukkan ke dalam kolam setelah melalui filter air. Dalam kondisi ini, kandungan kotoran dan kandungan senyawa berbahaya sudah bisa diminimalisir sehingga bakteri pathogen tidak berkembang dan membuat kesehatan dan daya tahan ikan terjaga (Agusta, 2016).



Gambar 5. Grafik Pengamatan Total Bakteri

Jumlah mikroba juga mengindikasikan adanya aktivitas mikroba. Dalam sistem RAS, kestabilan jumlah mikroba juga dapat dihubungkan dengan keberadaan mikroba terutama bakteri yang menopang proses nitrifikasi. Proses ini dimulai dari bahan organik yang terurai menjadi amonium yang oleh bakteri nitrosomonas dioksidasi menjadi nitrit. Selanjutnya, nitrit diubah menjadi nitrat oleh bakteri seperti nitrobacter atau nitrospina. Proses ini dapat membantu untuk mengurangi kandungan amonia di dalam air kolam (Jacinda et al. 2021). Jumlah bakteri yang terdeteksi dalam air kolam dalam studi ini dapat mengindikasikan ekologi mikroba dalam sistem RAS dapat terjaga

sehingga mendukung proses penguraian bahan organik yang ada di kolam.



Gambar 6. Gel Elektroporesis e-DNA (M: Marker; A : Sampel air hari 0; dan B: Sampel air hari 30)

Komunitas bakteri yang terdeteksi dalam studi ini juga dapat mengindikasikan kalau proses seperti denitrifikasi terjadi dalam sistem RAS. Dalam proses denitrifikasi ini nitrat dirubah menjadi nitrit untuk kemudian dirubah menjadi amonia dan dengan bantuan bakteri seperti Bacillus, Pseudomonas maupun Clostridium sp. merubah amonia menjadi gas N_2 , N_2O atau NO yang terlepas ke udara. Sistem RAS dapat menjaga kesetabilan jumlah mikroba dimana keseimbangan bakteri dibutuhkan untuk menjaga stabilitas dalam ekosistem kolam maupun tambak (Alfiansyah et al. 2018; Chen et al. 2017). Dengan stabilnya ekosistem kolam, maka pertumbuhan ikan dapat ditopang dengan baik karena ikan tidak mengeluarkan banyak energi untuk beradaptasi dengan perubahan kondisi lingkungan.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai suhu air di kolam ikan lele berkisar penelitian antara $28-29^{\circ}C$, nilai pH rata rata adalah 7,7 dan rata rata rata-rata oksigen terlarut antara 5,7 - 6,2 mg/L. Hasil dinamika kualitas air tersebut adalah kondisi optimum dalam proses budidaya lele. Hal ini berpengaruh dengan total kelimpahan mikroba. Jumlah kelimpahan mikroba pada awal budidaya adalah $1,68 \times 10^7$ sel/ml, dan pada hari ke 30 jumlah kelimpahan mikroba $3,6 \times 10^6$ sel/ml. Hasil

studi ini menunjukkan kalau kepadatan bakteri dalam air kolam budidaya lele dengan menggunakan sistem *Recirculating Aquaculture System* (RAS) relatif stabil dengan kecenderungan sedikit mengalami pengurangan. Hal ini dapat mengindikasikan kalau teknologi RAS dalam budidaya lele dapat membantu menjaga kualitas air dan kestabilan ekologi mikroba dalam air kolam.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfia, A. R., A. Endang dan E. Tita. 2013. Pengaruh kepadatan yang berbeda terhadap kelulushidupan dan pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) pada sistem resirkulasi dengan filter bioball. *Journal of Aquaculture and Technology*. 2 (3): 88-93.
- Alfiansah, Y.R., Hassenrück, C., Kunzmann, A., Taslihan, A., Harder, J., and Gärdes, A. (2018) Bacterial Abundance and Community Composition in Pond Water From Shrimp Aquaculture Systems With Different Stocking Densities. *Front. Microbiol.* 9:2457.
- Aoshima H., Kimura A., Shibutani A., Okada C., Matsumiya Y., Kubo M. (2006). Evaluation of soil bacterial biomass using environmental DNA extracted by slow-stirring method. *App. Micro. and Biotech*, 71, 875-880.
- Augusta, T. S. 2016. Dinamika perubahan kualitas air terhadap pertumbuhan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang dipelihara di kolam tanah. *Jurnal Ilmu Hewani Tropika*. 5 (1): 24-31.
- Chen, C-Y., Chen P-C., Weng, FC-H., Shaw, GT-W., Wang, D. (2017). Habitat and indigenous gut microbes contribute to the plasticity of gut microbiome in oriental river prawn during rapid environmental change. *PLOS ONE*. 2017a;12:e0181427.
- Ekawati, A.W., Ulfa, S.M., Dewi, C.S., Amin, A.A., Salamah, L.N., Yanuar, A.T., & Kurniawan, A. (2021). Analysis of Aquaponic-Recirculation Aquaculture System (A - Ras) Application in the Catfish (*Clarias gariepinus*) Aquaculture in Indonesia. *Aquaculture Studies* 21 (3), 93-100
- Fadhil, R., Johari E., Farah, S. T., Muhammad, S. (2010). Teknologi Sistem Akuakultur Resirkulasi untuk Meningkatkan Produksi Perikanan Darat di Aceh : Suatu Tinjauan. *Aceh Development International Conference 2010*, ISBN 978-967-5742-00-2
- Graber, A., and Junge, R. (2009). Aquaponic Systems: Nutrient recycling from fish wastewater by vegetable production. *Desalination*, 246, 147-156.
- Helfrich, L.A and Libey, G. (2000). Fish Farming in Recirculating Aquaculture System (RAS). Department of Fisheries and Wildlife Sciences. Virginia Tech.
- Iswanto, B., Imron., H. Marnis dan R. Suprpto. (2014). Petunjuk Teknis Budidaya Ikan Lele Mutiara. Balai Penelitian Pemuliaan Ikan (BPPI). Sukamandi. 52 hlm.
- Jacinda, A. K., Yustiati, A., & Andriani, Y. (2021). Aplikasi Teknologi Resirculating Aquaculture System (RAS) di Indonesia; A Review. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 11(1), 43-49
- Nirmala, K dan Djokosetyanto. 2012. Efektivitas kinerja media biofilter dalam sistem resirkulasi terhadap kualitas air untuk pertumbuhan dan sintasan ikan red rainbow (*Glossolepis incisus* Weber). *Jurnal Riset Akuakultur*. 7 (2): 279-292.
- Kristanti, A. I. 2014. Pengaruh pemanfaatan limbah roti dalam formulasi pakan terhadap retensi protein dan retensi energi pada benih lele dumbo (*Clarias gariepinus*). Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang. 73 hlm.
- Kurniawan, A., Prihanto, A.A., Sari, S. P., Febriyanti, D., Kurniawan, A., Sambah, A.B., Asriani, E. (2018). Isolation and Identification of cellulolytic bacteria from mangrove sediment in Bangka Island. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 137 (1), 012070.
- Kurniawan, A., Salamah, L.N., Amin, A.A., Yanuar, A. (2020). Biosorption of Cu (II) by natural biofilm matrix of Lahor Reservoirs, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 493 (1), 012008
- Lesmana, D. S. 2001. Budidaya Ikan Hias Air Tawar. Penebar Swadaya. Jakarta. 98 hlm.
- Mahyuddin, K. 2008. Panduan Lengkap Agribisnis Lele. Penebar Swadaya. Jakarta. 63 hlm.
- Ni, M., Liu, M., Lou, J., Mi, G., Yuan, J., Gu, Z. (2021) Stocking density alters growth performance, serum biochemistry, digestive enzymes,

- immune response, and muscle quality of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) in in-pond raceway system. *Fish Physiol. Biochem*, 47, 1243–1255
- Pramudia, Z., Amin A A., Yanuar AT., Susanti YAD, Yanuhar U., Ulfa, S.M., Huda A S., Kurniawan, A. (2022). Application of eDNA method to analyze bacterial community structures in the recirculation aquaculture systems of *Litopenaeus vannamei*. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 1036 (2022) 012122
- Putra, I., D. D. Setiyanto dan D. Wahyuningrum. 2011. Pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dalam sistem resirkulasi. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 16 (1): 56-63.
- Sahuleka, M., Apituley, Y. M., & Bawole, Di. (2020). Strategi pelibatan pemuda dalam pengembangan usaha budidaya keramba jaring apung di teluk ambon dalam. *Jurnal Penelitian Sosial Ekonomi Perikanan Dan Kelautan*, 4(2), 45–57.
- Sasongko, A. 2001. *Biomassa bakteri nitrifikasi pada berbagai bahan filter dalam sistem resirkulasi aliran tertutup dan pengaruhnya terhadap kondisi ikan*. Skripsi. Program Studi Ilmu Perairan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 64 hlm.
- Sastrawijaya, T. A. 2009. *Pencemaran Lingkungan*. Rinneka Cipta. Jakarta. 87 hlm
- Sudaryati, D., Heriningsih, S., & Ruserlistyani, R. (2017). Peningkatan produktivitas pelompok tani ikan lele dengan teknik bioflok. *Jppm: Jurnal Pengabdian Dan Pemberdayaan Masyarakat*, 1(2), 109.
- Yuniar, M., Pratiwi, D. Y., & Agung, M. U. K. (2021). Penyuluhan daring manajemen kualitas air untuk budidaya ikan dalam ember di desa cipaning kecamatan jatinangor kabupaten sumedang sawa barat. *Journal of Community Services*, 2(1), 42–46.

