

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/ma>

RESPONS IMUN UDANG VANAME PADA SISTEM BIOFLOK DENGAN KEPADATAN BERBEDA TERHADAP INFEKSI *Vibrio parahaemolyticus*

Widanarni^{*)}, Iin Nur Fadilah^{*)}, Nadia Cahyawati^{*)}, Munti Yuhana^{*)}, Sukenda^{*)}, Muhamad Gustilatov^{*)}

^{*)} Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB University, Bogor 16680, Indonesia

(Naskah diterima: 21 Mei 2025, Revisi final: 19 Agustus 2025, Disetujui publikasi: 24 Agustus 2025)

ABSTRAK

Budidaya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pada kepadatan tinggi meningkatkan stres dan risiko infeksi bakteri, khususnya *Vibrio parahaemolyticus*. Teknologi bioflok (BFT) melalui penambahan karbon organik dapat meningkatkan biomassa mikroba heterotrof yang memperbaiki respons imun dan menurunkan virulensi bakteri. Penelitian ini bertujuan menganalisis respons imun dan resistansi udang yang dipelihara dengan padat tebar berbeda dalam sistem bioflok terhadap infeksi *V. parahaemolyticus*. Udang ($0,44 \pm 0,02$ g) dipelihara selama 7 hari sebanyak 16 perlakuan hasil kombinasi sistem bioflok dan kontrol (tanpa bioflok) dengan kepadatan 4, 8, 12, dan 16 ekor L⁻¹, lalu diuji tantang melalui perendaman dengan dosis *V. parahaemolyticus* 10u CFU mL⁻¹ dimulai sejak awal perlakuan. Hasil menunjukkan bahwa sistem bioflok meningkatkan parameter imun udang, termasuk *total hemocyte count* (THC), aktivitas fagositik (AF), *respiratory burst* (RB), dan aktivitas *phenoloxidase* (PO) secara signifikan ($P < 0,05$) dibandingkan kontrol. Kelimpahan *V. parahaemolyticus* di air dan tubuh udang perlakuan bioflok lebih rendah dan berbeda signifikan ($P < 0,05$) dengan kontrol positif. Bioflok juga meningkatkan tingkat kelangsungan hidup, dengan nilai pada kepadatan 4 ekor L⁻¹ ($83,33 \pm 5,77\%$), dan tetap lebih baik dibandingkan kontrol hingga kepadatan 16 ekor L⁻¹. Sistem bioflok terbukti efektif meningkatkan respons imun, menekan infeksi *V. parahaemolyticus*, dan mempertahankan kelangsungan hidup udang vaname pada kepadatan tinggi.

KATA KUNCI: Bioflok, padat tebar, udang vaname, *Vibrio parahaemolyticus*

ABSTRACT: *Immune response of pacific white shrimp in biofloc systems with different densities against Vibrio parahaemolyticus infection*

The intensive culture of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) at high stocking densities increases stress and the risk of bacterial infections, particularly by *Vibrio parahaemolyticus*. Biofloc technology (BFT), through the addition of organic carbon sources, can enhance the biomass of heterotrophic microorganisms that improve immune responses and reduce bacterial virulence. This study aimed to analyze the immune response and resistance of shrimp reared at different stocking densities in a biofloc system against *V. parahaemolyticus* infection. Shrimp ($0,44 \pm 0,02$ g) were reared for 7 days under biofloc and control (non-biofloc) treatments at densities of 4, 8, 12, and 16 shrimp L⁻¹, and subsequently challenged by immersion with *V. parahaemolyticus* at a concentration of 10u CFU mL⁻¹ at the start of rearing. The results showed that the biofloc system significantly ($P < 0,05$) enhanced shrimp immune parameters, including total hemocyte count (THC), phagocytic activity (PA), respiratory burst (RB), and phenoloxidase (PO) activity compared to the control. The abundance of *V. parahaemolyticus* in the water and shrimp tissues of biofloc treatment was lower and significantly ($P < 0,05$) from the control. Moreover, the biofloc system improved shrimp survival rates, with the highest survival observed at 4 shrimp L⁻¹ ($83,33 \pm 5,77\%$) and consistently better survival than the control up to the highest density of 16 shrimp L⁻¹. Overall, the biofloc system proved effective in enhancing immune responses, suppressing *V. parahaemolyticus* infection, and maintaining the survival of Pacific white shrimp under high-density conditions.

KEYWORDS: Biofloc, stocking density, *Vibrio parahaemolyticus*, white shrimp.

#Korespondensi: Muhamad Gustilatov.

Departemen Budidaya Perairan, Jl. Raya Dramaga Kec. Dramaga, Kab. Bogor, 16680, Jawa Barat, Indonesia

E-mail: mgustilatov@apps.ipb.ac.id

PENDAHULUAN

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) salah satu komoditas akuakultur unggulan dengan produksi mencapai 6,8 juta ton pada tahun 2022 (FAO, 2024). Indonesia menjadi salah satu negara yang memiliki nilai ekspor terbesar didunia sebesar USD 2,2 miliar serta produsen udang vaname terbesar didunia (KKP 2022; FAO, 2023). Oleh karena itu, Indonesia memiliki potensi pengembangan budidaya udang vaname di pasar global dengan target utama negara-negara importir seperti Amerika Serikat, Tiongkok, Uni Eropa, Jepang, dan Republik Korea (FAO 2023). Sistem intensif dengan padat tebar tinggi dan pemberian pakan buatan dalam jumlah besar dapat digunakan untuk meningkatkan produksi udang vaname (Junda, 2018). Namun, sistem ini dapat mengakibatkan peningkatan jumlah limbah pakan, feses, dan sisa metabolisme, sehingga penurunan kualitas air, meningkatnya risiko serangan patogen, serta penurunan pertumbuhan udang (Harianto *et al.*, 2014, Suwoyo & Hendrajat, 2021; Watts *et al.*, 2017). Penyakit yang sering menyerang budidaya udang vaname yaitu vibriosis yang dapat disebabkan oleh Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* (Saputra *et al.*, 2023). Bakteri ini dapat menghasilkan toksin *pirA* dan *pirB* yang berpotensi menyebabkan *acute hepatopancreatic necrosis disease* (AHPND) (Zheng *et al.*, 2021). Penyakit AHPND yang menyerang budidaya udang vaname dapat menyebabkan mortalitas hingga 100% (Intriago *et al.*, 2023). Oleh karena itu, penyesuaian padat tebar udang vaname dengan daya dukung (*carrying capacity*) optimal diperlukan agar mengoptimalkan pertumbuhan, kualitas air, dan mencegah outbreak penyakit pada budidaya udang vaname (Alfiansah *et al.*, 2018).

Sistem bioflok dapat menjadi alternatif guna mengatasi konsentrasi nitrogen khususnya NH_4 tidak terionisasi di lingkungan budidaya yang dapat berdampak buruk bagi ekosistem budidaya udang vaname. Sistem bioflok menggunakan penambahan sumber karbon organik untuk mengubah senyawa nitrogen menjadi biomassa mikroorganisme heterotrof (Hagreaves, 2013). Flok yang terbentuk tidak hanya terdiri dari bakteri tetapi juga mikroalga, zooplankton, jamur dan bahan organik lainnya, yang dapat dikonsumsi sebagai sumber makanan tambahan untuk organisme budidaya (Ekasari *et al.*, 2014). Bioflok mengandung protein, lipid, karbohidrat, dan vitamin C yang baik untuk pertumbuhan karena dapat dijadikan sumber makanan bagi udang (Ekasari *et al.*, 2014). Selain itu, bioflok juga mengandung karotenoid, fitosterol, vitamin, dan taurin yang mampu meningkatkan kesehatan dan mengurangi stress pada udang (Xu & Pan, 2013). Penelitian (Gustilatov *et al.*,

2022), melaporkan bahwa bioflok dapat meningkatkan respons imun dan resistansi udang vaname terhadap bakteri *V. parahaemolyticus*.

Budidaya udang vaname sistem bioflok yang diterapkan dengan penentuan padat tebar yang sesuai daya dukung dapat meningkatkan produksi, kualitas air, dan laju pertumbuhan udang vaname (Lorenzo *et al.*, 2016; Rodríguez-Olague *et al.*, 2021). Penggunaan sistem bioflok dengan padat tebar yang berbeda pada udang vaname dapat mempengaruhi respons imun, resistansi pada infeksi *Vibrio harveyi*, serta menurunkan *stress* pada udang (Liu *et al.*, 2017). Penelitian terkait sistem bioflok dengan kepadatan berbeda dengan teknologi bioflok masih sedikit dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan menganalisis respons imun dan resistansi udang vaname *L.vannamei* yang dipelihara dengan padat tebar berbeda pada sistem bioflok terhadap infeksi bakteri *V. parahaemolyticus*.

BAHAN DAN METODE

Persiapan Hewan Uji

Hewan uji berasal dari PT Benur Andalan Abadi, Banten dan sudah bersertifikat *Specific Pathogen Free* (SPF) yang dipelihara hingga mencapai ukuran bobot rata-rata sebesar $0,44 \pm 0,02$ g.

Persiapan Wadah

Wadah pemeliharaan yang digunakan adalah toples kaca dengan volume 4 L sebanyak 48 unit yang sudah didesinfeksi menggunakan klorin (30 lL L^{-1}) selama 24 jam. Toples diisi air laut dengan salinitas 30 g L^{-1} hingga volume 2,5 L pada perlakuan tanpa bioflok, sedangkan perlakuan menggunakan bioflok diisi air laut dan air suspensi bioflok dengan perbandingan 2:3.

Penyediaan Bakteri

Bakteri yang digunakan yaitu *V. parahaemolyticus* yang dikultur pada media *thiosulfate citrate bile salts* (TCBS) dan diberi antibiotik rifampisin untuk mendapatkan bakteri target. Selanjutnya, bakteri dikultur ke media *sea water complete* (SWC) cair yang menghasilkan kepadatan bakteri sebesar 10^9 CFU mL^{-1} menggunakan metode cawan sebar.

Penyediaan Bioflok

Sumber bioflok yang digunakan yaitu molase komersil sebagai sumber C organik yang diberikan satu kali sehari dengan selang waktu dua jam setelah pemberian pakan pagi. Jumlah molase yang ditambahkan sesuai skema kalkulasi kebutuhan karbon oleh De Schryver *et al.* (2008) dengan kandungan protein pakan yang dibutuhkan sebesar 40% dan kandungan karbon organik molase yaitu 43,31%. Maka, untuk setiap kepadatan dibutuhkan molase sebanyak

0,50; 1,00; 1,50; dan 2,00 g/hari.

Pemeliharaan Hewan Uji

Udang vaname dengan bobot rata-rata $0,44 \pm 0,02$ g ditebar dengan kepadatan 4, 8, 12, 16 ekor L^{-1} , kemudian dipelihara selama 7 hari pemeliharaan. Selama pemeliharaan, udang vaname diberi pakan komersial dengan kandungan protein 40%. Pemberian pakan dilakukan sebanyak 4 kali sehari yaitu pada pukul 08.00, 12.00, 16.00, 20.00 WIB dengan *feeding rate* (FR) 10%. Pemeliharaan untuk uji tantang dilakukan menggunakan bakteri *V. parahaemolyticus* dengan konsentrasi *lethal concentration* (LC_{50}) (10^5 CFU mL^{-1}) sejak hari pertama pemeliharaan menggunakan metode perendaman. Pengamatan parameter respons imun serta kelimpahan bakteri udang vaname dilakukan pada hari ke-0 sebelum uji tantang serta hari ke-1, ke-3, dan ke-7 pasca uji tantang.

Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 16 perlakuan dengan masing-masing tiga kali ulangan. Perlakuan meliputi kontrol negatif (K-) (tanpa sistem bioflok dan tanpa diuji tantang *V. Parahaemolyticus*), kontrol positif (K+) (tanpa bioflok dan diuji tantang *V. Parahaemolyticus*), kontrol bioflok (KB) (sistem bioflok tanpa diuji tantang *V. Parahaemolyticus*), dan bioflok diuji tantang *V. Parahaemolyticus* (BF). Setiap perlakuan dilakukan dengan variasi kepadatan udang mulai dari 4, 8, 12, dan 16 ekor L^{-1} . Perlakuan dilakukan pengamatan respons imun dan kelimpahan bakteri pada H0 (sebelum uji tantang), H1 (hari pertama pasca uji tantang), H3 (hari ketiga pasca uji tantang), H7 (hari ketujuh pasca uji tantang). Data yang didapat ditabulasi menggunakan Microsoft Excel 2019, dilakukan analisis variansi (ANOVA), dan uji lanjut Tukey dengan *software* IBM SPSS versi 26.0.

Parameter Penelitian

Parameter respons imun yang meliputi *total Haemocyte Count* (THC) dilakukan dengan menggerus tubuh udang dan penambahan antikoagulan (Na-sitrat 3,8%) untuk mengetahui total hemosit yang diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran $100\times$, dihitung dengan rumus jumlah hemosit teramati $\times 1/\text{volume hitung} \times \text{factor pengencer}$ (Hamsah *et al.*, 2019). Pengukuran aktivitas fagositik (AF) dilakukan dengan mencampurkan hemolim udang sebanyak 100 μL dan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* (10^7 CFU mL^{-1}) sebanyak 25 μL dalam PBS untuk dipreparat ulas dan dilakukan pemberian Giemsa, dihitung dengan rumus jumlah sel yang melakukan fagositosis/jumlah sel fagosit $\times 100$ (Anderson & Siwicki, 1993). *Respiratory burst* dinyatakan sebagai reduksi *nitroblue tetrazolium* (NBT) per 10 μL hemolim

sebagai ukuran *superoxide anion* (O_2^-) dengan densitas optimal sebesar 630 nm (Cheng *et al.*, 2004). Aktivitas *phenoloxidase* (PO) adalah proses pembentukan *dopachrome* dalam 100 μL hemolim dengan densitas optimal sebesar 492 nm (Liu & Chen, 2004).

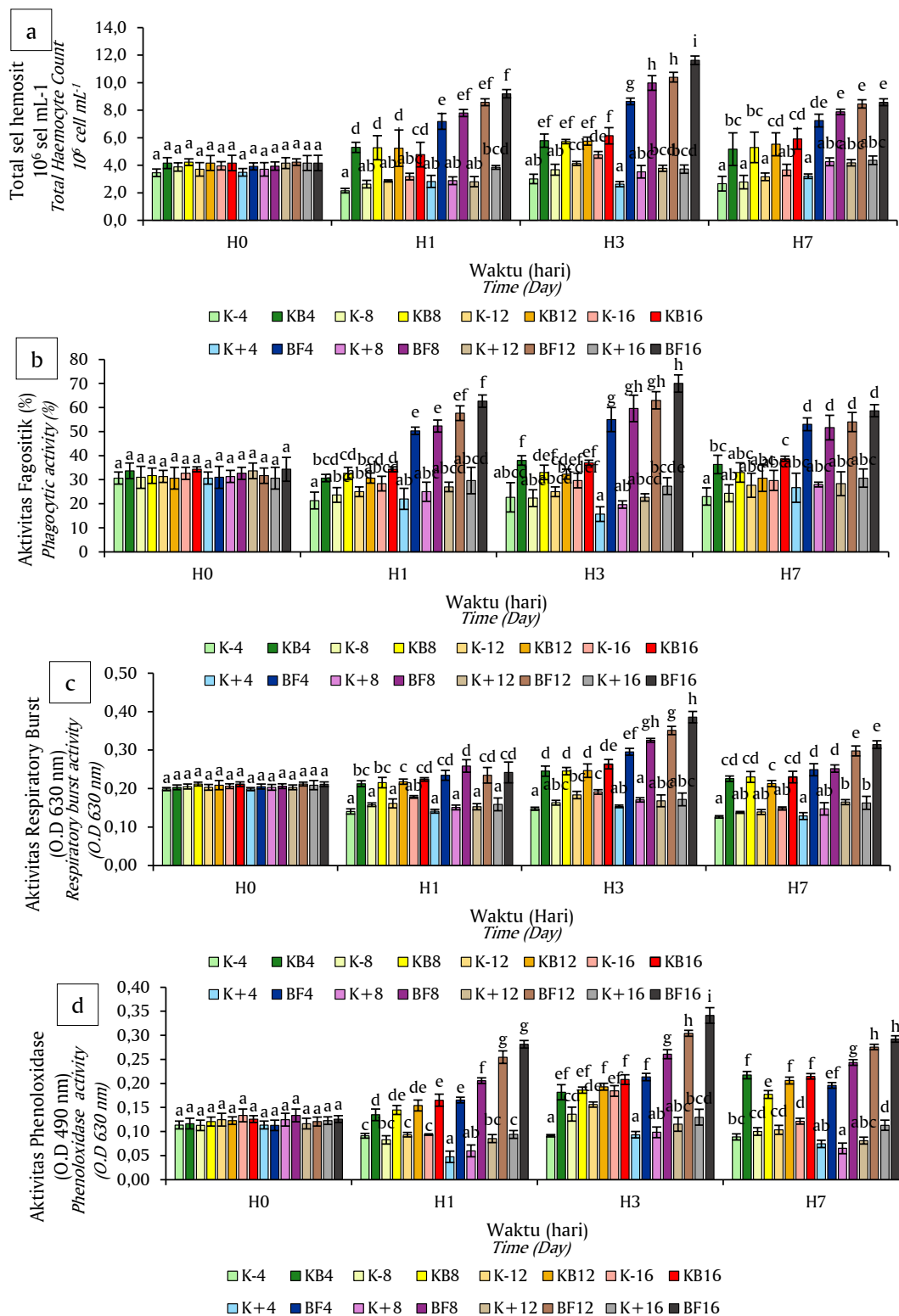
Parameter kelimpahan bakteri dihitung dengan metode cawan sebar menggunakan *total plate count* (TPC) dengan rumus: jumlah koloni $\times 1/\text{faktor pengencer} \times 1/mL$ sampel sesuai metode Madigan *et al.*, (2003). Sampel yang digunakan untuk parameter TPC berasal dari sampel air pemeliharaan dan tubuh udang sebanyak masing-masing sampel berjumlah tiga udang yang di *pooling*. Parameter tingkat kelangsungan hidup merupakan persentase jumlah udang yang hidup di akhir pemeliharaan dengan jumlah udang yang hidup di awal pemeliharaan, sesuai dengan metode (Widanarni *et al.*, 2009). Parameter kualitas air meliputi suhu, *dissolved oxygen* (DO), pH, dan salinitas dilakukan pengamatan setiap hari. Sedangkan, *total ammonia nitrogen* (TAN), nitrat, dan nitrit diamati pada akhir pemeliharaan.

HASIL DAN BAHASAN

Respons Imun

Hasil pengamatan respons imun udang vaname yang diuji tantang *V. parahaemolyticus* selama 7 hari ditunjukkan pada (Gambar 1.). Nilai THC (Gambar 1a.) secara keseluruhan meningkat pada hari ke-1 dan 3 perlakuan kontrol bioflok maupun bioflok uji tantang baik kepadatan rendah maupun tinggi menunjukkan perbedaan signifikan ($P < 0,05$) dengan kontrol negatif maupun kontrol positif. Nilai AF (Gambar 1b.) menunjukkan pasca uji tantang perlakuan bioflok yang diuji tantang *V. parahaemolyticus* baik di kepadatan tertinggi maupun terendah memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan perlakuan kontrol positif dan berbeda nyata ($P < 0,05$). Nilai RB (Gambar 1c.) secara keseluruhan pada perlakuan bioflok uji tantang memiliki nilai lebih tinggi dibanding kontrol dan berbeda nyata ($P < 0,05$). Nilai RB pada hari ke-1 pada perlakuan kontrol bioflok dan bioflok uji tantang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) di semua kepadatan, namun memiliki nilai lebih tinggi dibanding kontrol negatif dan kontrol positifnya serta berbeda nyata ($P < 0,05$). Nilai PO (Gambar 1d.) pasca uji tantang pada perlakuan bioflok yang diuji tantang *V. parahaemolyticus* secara keseluruhan memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan kontrol negatif dan kontrol positif, serta berbeda nyata ($P < 0,05$).

Nilai THC udang vaname setelah dilakukan uji tantang menunjukkan perlakuan bioflok pada kepadatan tinggi maupun kepadatan rendah memiliki nilai lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan kontrol positifnya ($P < 0,05$). Hal tersebut



Gambar 1. Total haemocyte count (a), aktivitas fagositosis (b), respiratory burst (c), dan aktivitas phenoloxidase (d) udang vaname yang dipelihara pada padat tebar berbeda dalam sistem bioflok dan diuji tantang dengan *Vibrio parahaemolyticus*. Keterangan: Huruf berbeda di atas bar pada periode pengamatan yang sama menunjukkan berbeda nyata (Uji Tukey $P < 0,05$).

Figure 1. Total haemocyte count (a), phagocytic activity (b), respiratory burst (c), and phenoloxidase activity (d) of Pacific white shrimp reared at different stocking densities in the bioflok system and challenged with *Vibrio parahaemolyticus*. Note: Different letters above the bars within the same observation period indicate significant differences (Tukey's test, $P < 0.05$).

mengindikasikan bahwa bioflok mampu merangsang pembentukan hemosit udang vaname. Selain itu, tingginya nilai hemosit perlakuan bioflok pada kepadatan tinggi menandakan bioflok bekerja untuk melawan infeksi dan stress pada udang. Kandungan *poly-beta-hydroxybutyrate* (PHB) sebagai anti bakteri dan karotenoid sebagai antioksidan dalam bioflok mampu meningkatkan produksi hemosit sehingga meningkatkan respons imun, menurunkan virulensi patogen, dan mengurangi stress pada udang vaname (Saseendran *et al.*, 2020; Rajeev *et al.*, 2022). Nilai AF pasca uji tantang tertinggi ditunjukkan pada perlakuan BF16 dibandingkan perlakuan lainnya. Peningkatan nilai AF diduga bahwa bioflok mampu meningkatkan produksi hialin dan pertahanan tubuh udang vaname. Nilai AF mengalami peningkatan berbanding lurus dengan peningkatan jumlah hemosit (Darwanti *et al.*, 2016). Nilai RB pasca uji tantang tertinggi ditunjukkan pada perlakuan BF16 dibandingkan perlakuan lainnya. Hal tersebut menunjukkan bahwa

bioflok memberikan pengaruh pada peningkatan nilai RB. Nilai RB meningkat karena adanya peningkatan konsumsi oksigen yang dibantu oleh enzim NADPH-oksidas sehingga menghasilkan *superoxide anion* (O_2^-) yang tinggi sehingga sistem imun menjadi lebih baik (Kilawati *et al.*, 2021). Hasil pengukuran PO menunjukkan udang pada perlakuan BF kepadatan tinggi maupun kepadatan rendah memiliki nilai lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan kontrol positifnya ($P < 0,05$). Aktivitas PO meningkat pada perlakuan bioflok dimana PO berkaitan dengan proses melanisasi yang menginaktivasi dan mencegah penyebaran patogen (Amparyup *et al.*, 2013).

Total *Vibrio parahaemolyticus* Count

Kelimpahan bakteri *V. parahaemolyticus* di air pemeliharaan dan tubuh udang disajikan pada (Tabel 1). Kelimpahan bakteri *V. parahaemolyticus* baik di air pemeliharaan maupun di tubuh udang pada perlakuan bioflok menunjukkan jumlah yang lebih rendah

Tabel 1. Total *Vibrio parahaemolyticus* Count pada air pemeliharaan dan tubuh udang vaname yang dipelihara pada padat tebar berbeda dalam sistem bioflok dan diuji tantang dengan *Vibrio parahaemolyticus*.
Table 1. Total *Vibrio parahaemolyticus* Count in the rearing water and body of Pacific white shrimp reared at different stocking densities in the biofloc system and challenged with *Vibrio parahaemolyticus*

<i>V. parahaemolyticus</i>	Perlakuan <i>Treatment</i>	Waktu (hari) <i>Time (day)</i>		
		H1	H3	H7
Air <i>Water</i> (Log CFU mL ⁻¹)	K+4	5,68±0,03 ^b	4,33±0,15 ^c	4,18±0,08 ^{cde}
	BF4	5,34±0,03 ^a	3,62±0,06 ^a	3,06±0,25 ^a
	K+8	5,71±0,02 ^b	4,48±0,07 ^{cd}	4,30±0,04 ^{cde}
	BF8	5,35±0,04 ^a	3,98±0,07 ^b	3,51±0,12 ^b
	K+12	5,72±0,03 ^b	4,64±0,04 ^{de}	4,41±0,06 ^{de}
	BF12	5,41±0,01 ^a	4,33±0,02 ^c	4,03±0,09 ^c
	K+16	5,68±0,14 ^b	4,71±0,06 ^e	4,49±0,06 ^e
	BF16	5,46±0,02 ^a	4,42±0,01 ^c	4,14±0,09 ^{cd}
Tubuh <i>Body</i> (Log CFU g ⁻¹)	K+4	4,42±0,02 ^b	4,09±0,12 ^{bcd}	3,42±0,10 ^{bc}
	BF4	4,22±0,07 ^a	3,79±0,03 ^a	2,60±0,30 ^a
	K+8	4,45±0,04 ^b	4,11±0,05 ^{cd}	3,72±0,13 ^{cd}
	BF8	4,23±0,05 ^a	3,90±0,02 ^{ab}	3,09±0,10 ^b
	K+12	4,46±0,04 ^b	4,20±0,13 ^{de}	3,86±0,14 ^{cd}
	BF12	4,29±0,04 ^a	3,97±0,07 ^{abc}	3,15±0,15 ^b
	K+16	4,50±0,03 ^b	4,39±0,02 ^e	3,98±0,10 ^d
	BF16	4,25±0,07 ^a	4,11±0,05 ^{cd}	3,18±0,25 ^b

Keterangan: Huruf berbeda pada air atau tubuh udang di kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (Uji Tukey $P < 0,05$).
Note: Different letters in the same column, either for water or shrimp body, indicate significant differences (Tukey's test, $P < 0.05$).

dibanding kontrol positif dan berbeda nyata ($P<0,05$). Kelimpahan bakteri *V. parahaemolyticus* di air dan tubuh udang pada keseluruhan perlakuan memiliki nilai tertinggi pada hari ke-1 pasca ujiantang dan terus mengalami penurunan hingga akhir pengamatan.

Populasi bakteri *V. parahaemolyticus* di media pemeliharaan maupun tubuh perlakuan BF mengalami penurunan pada hari ke-7 pasca ujiantang dan berbeda nyata dengan kontrol positif ($P<0,05$). Bioflok dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen karena mikroorganisme yang berasosiasi dengan bioflok dapat bersaing dalam perolehan nutrisi, energi, dan lokasi (Ferreira *et al.*, 2020).

Total Presumptive Vibrio Count

Total presumptive vibrio count pada (Tabel 2.) baik di air pemeliharaan dan tubuh udang pada hari ke-0 tanpa ujiantang maupun ujiantang berada pada kisaran Log 10^2 - 10^3 CFU. Kelimpahan bakteri presumptive vibrio count di air dan tubuh udang tanpa diujiantang maupun ujiantang memiliki nilai tertinggi pada hari ke-1 pasca ujiantang dan terus mengalami penurunan hingga akhir pengamatan. Kelimpahan bakteri presumptive vibrio count di air pemeliharaan dan tubuh udang pada H7 perlakuan bioflok tanpa diujiantang menunjukkan berbeda nyata ($P<0,05$) dengan kontrol negatif sedangkan pada

Tabel 2. Total presumptive Vibrio count pada air pemeliharaan dan tubuh udang vaname yang dipelihara pada padat tebar berbeda dalam sistem bioflok dan diujiantang dengan *Vibrio parahaemolyticus*

Table 2. Total Presumptive Vibrio Count in the rearing water and body of Pacific white shrimp reared at different stocking densities in the biofloc system and challenged with *Vibrio parahaemolyticus*

Presumptive Vibrio Count	Perlakuan Treatment	Waktu (hari) Time (day)			
		H0	H1	H3	H7
Air Water (Log CFU mL ⁻¹)	K-4	2,56±0,24 ^a	4,21±0,12 ^{bcd}	4,65±0,08 ^b	4,35±0,08 ^b
	KB4	2,60±0,30 ^a	3,78±0,44 ^{abc}	3,60±0,30 ^a	3,56±0,24 ^a
	K-8	2,66±0,32 ^a	4,39±0,08 ^{cd}	4,78±0,09 ^b	4,48±0,09 ^b
	KB8	2,79±0,20 ^a	3,56±0,24 ^a	3,63±0,35 ^a	3,56±0,24 ^a
	K-12	2,79±0,20 ^a	4,49±0,16 ^d	4,87±0,08 ^b	4,68±0,02 ^b
	KB12	2,73±0,38 ^a	3,69±0,36 ^{ab}	3,86±0,36 ^a	3,66±0,32 ^a
	K-16	2,83±0,21 ^a	4,58±0,15 ^d	4,93±0,10 ^b	4,72±0,04 ^b
	KB16	2,66±0,39 ^a	3,78±0,44 ^{abc}	3,99±0,21 ^a	3,76±0,45 ^a
	K+4	2,85±0,13 ^a	6,17±0,12 ^e	5,79±0,09 ^c	5,52±0,10 ^{cd}
	BF4	2,86±0,07 ^a	6,32±0,02 ^e	6,21±0,02 ^{def}	5,31±0,06 ^c
	K+8	3,08±0,08 ^a	6,50±0,07 ^e	5,86±0,03 ^{cd}	5,70±0,15 ^{cde}
	BF8	2,84±0,47 ^a	6,36±0,05 ^e	6,31±0,03 ^{def}	5,54±0,08 ^{cd}
	K+12	3,18±0,09 ^a	6,56±0,13 ^e	5,91±0,05 ^{cd}	5,78±0,13 ^{cde}
	BF12	2,72±0,49 ^a	6,53±0,06 ^e	6,42±0,06 ^{ef}	6,02±0,05 ^{de}
	K+16	3,29±0,11 ^a	6,69±0,08 ^e	5,98±0,02 ^{cde}	5,85±0,10 ^{cde}
	BF16	2,92±0,28 ^a	6,63±0,01 ^e	6,53±0,03 ^f	6,12±0,15 ^e
Tubuh Body (Log CFU g ⁻¹)	K-4	2,56±0,24 ^a	4,23±0,08 ^b	4,50±0,14 ^b	4,22±0,08 ^{bcd}
	B4	2,60±0,30 ^a	3,56±0,24 ^a	3,60±0,30 ^a	3,56±0,24 ^a
	K-8	2,86±0,24 ^a	4,21±0,12 ^b	4,67±0,15 ^{bcd}	4,35±0,13 ^{cd}
	B8	2,60±0,30 ^a	3,56±0,24 ^a	3,56±0,24 ^a	3,56±0,24 ^a
	K-12	3,14±0,06 ^a	4,24±0,21 ^b	4,71±0,12 ^{bcd}	4,56±0,06 ^{cd}
	B12	2,72±0,49 ^a	3,63±0,35 ^a	3,56±0,24 ^a	3,63±0,35 ^{ab}
	K-16	3,21±0,12 ^a	4,33±0,10 ^{bc}	4,84±0,04 ^{bcd}	4,54±0,17 ^{cd}
	B16	2,63±0,35 ^a	3,66±0,32 ^a	3,56±0,24 ^a	3,56±0,24 ^a
	K+4	2,60±0,30 ^a	5,04±0,09 ^d	4,86±0,19 ^{bcd}	4,23±0,10 ^{cd}
	BF4	2,66±0,10 ^a	4,79±0,18 ^{cd}	4,50±0,23 ^b	3,99±0,21 ^{abc}
	K+8	2,79±0,20 ^a	5,05±0,08 ^d	4,89±0,20 ^{bcd}	4,36±0,15 ^{cd}
	BF8	2,82±0,07 ^a	5,07±0,05 ^d	4,58±0,05 ^{bc}	4,12±0,24 ^{abcd}
	K+12	2,73±0,38 ^a	5,13±0,13 ^d	5,06±0,09 ^{cd}	4,49±0,25 ^{cd}
	BF12	2,98±0,19 ^a	5,09±0,09 ^d	4,94±0,09 ^{bcd}	4,39±0,18 ^{cd}
	K+16	3,08±0,16 ^a	5,23±0,07 ^d	5,18±0,10 ^d	4,64±0,05 ^d
	BF16	3,13±0,30 ^a	5,12±0,10 ^d	5,04±0,12 ^{cd}	4,36±0,15 ^{cd}

Keterangan: Huruf berbeda pada air atau tubuh udang di kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (Uji Tukey $P<0,05$).

Note: Different letters in the same column, either for water or shrimp body, indicate significant differences (Tukey's test, $P<0,05$).

perlakuan bioflok diuji tantang menunjukkan tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dengan kontrol positif.

Hasil pengamatan *presumptive Vibrio count* menunjukkan tidak berbeda nyata antara perlakuan BF dan K+ baik di air pemeliharaan maupun di tubuh udang. Menurut penelitian Tapaamorndech *et al.* (2020), hasil analisis metagenomik dalam aplikasi bioflok menunjukkan bakteri yang banyak mendominasi dalam bioflok yaitu bakteri dari genus *Vibrio*. Akan tetapi, bakteri genus *Vibrio* ini bersifat nonpatogenik sehingga bakteri yang dihitung dari hasil *presumptive Vibrio count* tidak semua bakteri yang

terhitung bersifat patogen di sistem bioflok (Asplund *et al.*, 2011).

Total Kelimpahan Bakteri

Kelimpahan total bakteri pada (Tabel 3.). di air pemeliharaan pada hari ke-0 perlakuan tanpa uji tantang dan uji tantang berada pada kisaran Log 10^6 CFU mL⁻¹, sedangkan kelimpahan total bakteri pada tubuh udang perlakuan tanpa uji tantang dan uji tantang berada pada kisaran Log 10^5 CFU g⁻¹. Hasil kelimpahan total bakteri di air pemeliharaan tanpa diuji tantang perlakuan bioflok berada pada kisaran Log 10^6 CFU mL⁻¹ dan berbeda nyata ($P<0,05$) dengan kontrol negatif kecuali

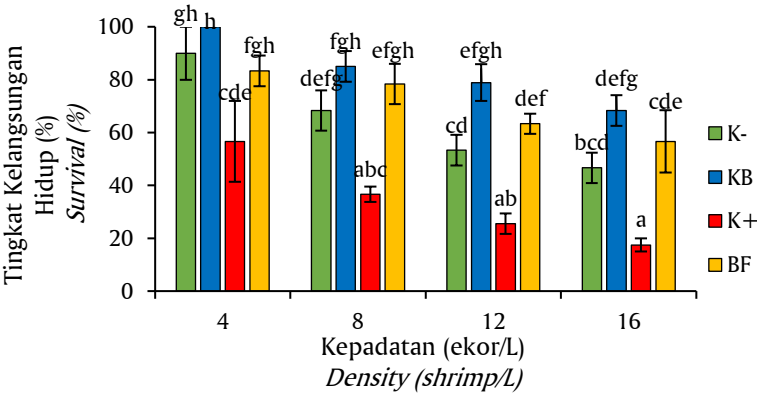
Tabel 3. Total kelimpahan bakteri pada air pemeliharaan dan tubuh udang vaname yang dipelihara pada padat tebar berbeda dalam sistem bioflok dan diuji tantang dengan *Vibrio parahaemolyticus*.

Table 3. Total Bacterial Abundance in the rearing water and body of Pacific white shrimp reared at different stocking densities in the biofloc system and challenged with *Vibrio parahaemolyticus*

Kelimpahan total bakteri <i>Total bacterial count</i>	Perlakuan <i>Treatment</i>	Waktu (hari) <i>Time (Day)</i>			
		H0	H1	H3	H7
Air Water (Log CFU mL ⁻¹)	K-4	6,59±0,10 ^{bc}	6,70±0,11 ^{bcde}	7,33±0,11 ^{bcde}	6,97±0,08 ^{bcde}
	KB4	5,95±0,16 ^a	6,34±0,08 ^a	7,13±0,01 ^{ab}	6,52±0,10 ^a
	K-8	6,62±0,09 ^{bc}	6,82±0,13 ^{cdef}	7,39±0,07 ^{cde}	7,08±0,14 ^{cdef}
	KB8	6,23±0,13 ^{abc}	6,55±0,09 ^{abc}	7,22±0,02 ^{abc}	6,64±0,05 ^{ab}
	K-12	6,55±0,22 ^{bc}	6,90±0,08 ^{defg}	7,44±0,10 ^{cdef}	7,05±0,13 ^{cdef}
	KB12	6,28±0,09 ^{abc}	6,46±0,23 ^{ab}	7,16±0,05 ^{ab}	6,76±0,05 ^{abc}
	K-16	6,63±0,08 ^{bc}	7,02±0,06 ^{efgh}	7,46±0,12 ^{def}	7,12±0,09 ^{defg}
	KB16	6,15±0,22 ^{ab}	6,59±0,06 ^{abcd}	7,11±0,05 ^a	6,85±0,04 ^{abcd}
	K+4	6,56±0,08 ^{bc}	7,22±0,07 ^{ghij}	7,47±0,04 ^{ef}	7,09±0,26 ^{cdef}
	BF4	6,02±0,13 ^a	7,04±0,03 ^{efgh}	7,23±0,02 ^{abcd}	7,35±0,03 ^{fgh}
	K+8	6,53±0,17 ^{bc}	7,44±0,10 ^{ijk}	7,63±0,05 ^{fg}	7,25±0,13 ^{efgh}
	BF8	6,32±0,13 ^{abc}	7,05±0,21 ^{fgh}	7,31±0,08 ^{abcde}	7,39±0,01 ^{fgh}
	K+12	6,59±0,19 ^{bc}	7,53±0,06 ^{jk}	7,63±0,12 ^{fg}	7,36±0,07 ^{fgh}
	BF12	6,20±0,37 ^{abc}	7,10±0,17 ^{fghi}	7,42±0,12 ^{cdef}	7,44±0,06 ^{gh}
	K+16	6,68±0,06 ^c	7,68±0,08 ^k	7,75±0,03 ^f	7,38±0,10 ^{fgh}
	BF16	6,19±0,21 ^{abc}	7,30±0,02 ^{hij}	7,51±0,09 ^{ef}	7,54±0,09 ^h
Tubuh Body (Log CFU g ⁻¹)	K-4	5,38±0,11 ^{ab}	5,62±0,18 ^{ab}	6,06±0,07 ^{abcd}	5,92±0,14 ^{abcd}
	B4	4,94±0,19 ^a	5,40±0,19 ^a	5,76±0,12 ^a	5,80±0,13 ^{abc}
	K-8	5,40±0,12 ^{ab}	5,78±0,14 ^{abc}	6,14±0,09 ^{bcde}	6,08±0,10 ^{bcd}
	B8	5,21±0,27 ^{ab}	5,63±0,26 ^{ab}	5,97±0,11 ^{ab}	5,61±0,08 ^a
	K-12	5,52±0,15 ^b	5,86±0,05 ^{bcd}	6,16±0,11 ^{bcde}	6,03±0,07 ^{bcd}
	B12	5,48±0,13 ^b	5,53±0,23 ^{ab}	5,95±0,20 ^{ab}	5,70±0,05 ^{ab}
	K-16	5,51±0,15 ^b	5,81±0,10 ^{abc}	6,24±0,06 ^{bcde}	6,05±0,05 ^{bcd}
	B16	5,61±0,10 ^b	5,55±0,20 ^{ab}	6,04±0,10 ^{abc}	5,98±0,15 ^{abc}
	K+4	5,18±0,11 ^{ab}	6,19±0,08 ^{cde}	6,13±0,11 ^{bcde}	5,98±0,13 ^{abcd}
	BF4	5,35±0,10 ^{ab}	6,30±0,02 ^e	6,32±0,05 ^{cde}	6,27±0,04 ^d
	K+8	5,18±0,24 ^{ab}	6,29±0,04 ^e	6,15±0,12 ^{bcde}	5,81±0,13 ^{abc}
	BF8	5,33±0,11 ^{ab}	6,37±0,04 ^e	6,41±0,15 ^e	6,22±0,12 ^d
	K+12	5,25±0,05 ^{ab}	6,24±0,11 ^{de}	6,19±0,10 ^{bcde}	5,98±0,31 ^{abcd}
	BF12	5,36±0,11 ^{ab}	6,44±0,06 ^e	6,38±0,06 ^{de}	6,25±0,07 ^d
	K+16	5,24±0,30 ^{ab}	6,27±0,13 ^{de}	6,25±0,10 ^{bcde}	5,88±0,20 ^{abcd}
	BF16	5,32±0,11 ^{ab}	6,52±0,07 ^e	6,39±0,07 ^{de}	6,20±0,13 ^{cd}

Keterangan: Huruf berbeda pada air atau tubuh udang di kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (Uji Tukey $P<0,05$).

Note: Different letters in the same column, either for water or shrimp body, indicate significant differences (Tukey's test, $P<0,05$).



Gambar 2. Tingkat kelangsungan hidup udang vaname yang dipelihara pada padat tebar berbeda dalam sistem bioflok dan diuji tantang dengan *Vibrio parahaemolyticus* selama 7 hari pemeliharaan Keterangan: Huruf berbeda di atas bar menunjukkan berbeda nyata (Uji Tukey $P < 0,05$).

Figure 2. Survival rate of Pacific white shrimp reared at different stocking densities in the biofloc system and challenged with *Vibrio parahaemolyticus* for 7 days of rearing. Note: Different letters above the bars indicate significant differences (Tukey's test, $P < 0.05$).

Tabel 4. Parameter kualitas air udang vaname selama masa pemeliharaan
Table 4. Water quality parameters of Pacific white shrimp during the rearing period

Parameter	Perlakuan Treatment				Acuan Reference (SNI 8008:2014)
	K-	KB	K+	BF	
Suhu (°C) Temperature (°C)	27,1-28,1	27,0-28,5	27,3-28,6	27,3-28,9	> 27
DO (mg L ⁻¹)	4,50-5,90	4,00-6,60	4,12-6,51	4,42-6,54	> 4
pH	7,5-8,4	7,5-8,4	7,6-8,4	7,6-8,5	7,5 – 8,5
Salinitas (g L ⁻¹) Salinity (g L ⁻¹)	30-31	30-31	30-31	30-31	10 – 32
TAN (mg L ⁻¹)	0,02-0,06	0,01-0,04	0,02-0,04	0,01-0,03	< 0,1
NO ₂ ⁻ (mg L ⁻¹)	0,37-0,66	0,23-0,70	0,24-0,40	0,36-0,50	< 1
NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	0,46-0,71	0,45-0,72	0,42-0,70	0,51-0,78	0,4 – 0,8

pada perlakuan K12 dan B12. Kelimpahan total bakteri di air pemeliharaan uji tantang perlakuan bioflok sebesar 10⁷ CFU mL⁻¹ namun tidak berbeda nyata dengan kontrol positif sistem bioflok. Kelimpahan total bakteri di tubuh udang pada hari ke-0 perlakuan bioflok tidak berbeda nyata dengan kontrol baik tanpa uji tantang maupun diuji tantang ($P > 0,05$). Kelimpahan total bakteri pada tubuh udang berada pada kisaran Log 10⁵ – 10⁶ CFU mL⁻¹ baik tanpa uji tantang maupun diuji tantang.

Kelimpahan bakteri di air pemeliharaan dan tubuh udang pada perlakuan bioflok menunjukkan semakin tinggi padat tebar maka kelimpahan bakteri semakin meningkat. Menurut Said *et al.*, 2024, kelimpahan total bakteri pada padat tebar tertinggi memiliki kelimpahan bakteri yang lebih banyak baik di air maupun tubuh udang karena bioflok mampu memperbanyak biomassa mikroba yang menguntungkan untuk udang.

Tingkat Kelangsungan Hidup

Tingkat kelangsungan hidup (Gambar 2.) menunjukkan perlakuan bioflok baik tanpa uji tantang maupun diuji berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan kontrol positif. Tingkat kelangsungan hidup tertinggi terletak pada kontrol bioflok (KB4) sebesar (100,00±0,00%) sedangkan pada perlakuan bioflok uji tantang terletak pada perlakuan BF4 (83,33±5,77%). Tren penurunan tingkat kelangsungan hidup terendah terletak pada kepadatan tertinggi di uji tantang perlakuan K+ 16 (17,50±2,50%).

Penerapan bioflok mampu memproteksi hingga kepadatan 16 ekor L⁻¹. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, menunjukkan kemampuan sistem bioflok dalam meningkatkan respons imun dan tingkat kelangsungan hidup udang vaname setelah diuji tantang dengan bakteri *V. parahaemolyticus* (Gustilatov *et al.*, 2023).

Kualitas Air

Hasil pengukuran kualitas air (Tabel 4) selama proses pemeliharaan berada pada kondisi optimum yang sesuai dengan SNI (8008:2014) untuk kegiatan budidaya udang vaname. Secara keseluruhan nilai TAN dan NO_2 pada perlakuan bioflok lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan tanpa sistem bioflok.

Bioflok juga berpengaruh positif terhadap kualitas air karena dapat menurunkan konsentrasi amonia dan nitrit (Ali *et al.*, 2020). Penambahan C:N rasio yang sesuai dapat meningkatkan populasi bakteri heterotrof sehingga dapat mengkonversi senyawa yang bersifat toksik di lingkungan budidaya menjadi biomassa mikroba (Kumar *et al.*, 2018).

KESIMPULAN

Penerapan sistem bioflok mampu meningkatkan respons imun udang vaname, yang ditunjukkan melalui peningkatan *total hemocyte count* (THC), aktivitas fagositik (AF), *respiratory burst* (RB), dan aktivitas *phenoloxidase* (PO). Sistem ini juga mampu menurunkan kelimpahan populasi *V. parahaemolyticus* baik di media pemeliharaan maupun di tubuh udang secara signifikan. Selain itu, sistem bioflok berkontribusi dalam meningkatkan tingkat kelangsungan hidup udang, dengan hasil terbaik tercapai pada kepadatan 4 ekor L^{-1} , namun tetap mempertahankan kelangsungan hidup yang lebih baik dibandingkan kontrol hingga pada padat tebar tertinggi (16 ekor L^{-1}). Secara keseluruhan, penerapan bioflok tidak hanya meningkatkan ketahanan udang terhadap infeksi *V. parahaemolyticus*, tetapi juga memungkinkan budidaya intensif udang vaname dengan performa kesehatan dan tingkat kelangsungan hidup yang lebih optimal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset, dan Teknologi, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi melalui skema Hibah BIMA Penelitian Terapan dengan nomor kontrak: 027/E5/PG.02.00/PL/2024.

DAFTAR ACUAN

- Ali, M. A., Khuraiba, H. M., Elsayed, N. E., & Sharawy, Z. Z. (2020). The effect of different stocking densities of marine shrimp larvae *Litopenaeus vannamei* on water quality using biofloc technology. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 23(1), 183-195.
- Alfiansah, Y. R., Hassenrück, C., Kunzmann, A., Taslihan, A., Harder, J., & Gärdes, A. (2018). Bacterial abundance and community composition in pond water from shrimp aquaculture systems

with different stocking densities. *Frontiers in microbiology*, 9(2457), 1-15.

- Amparyup, P., Charoensapsri, W., & Tassanakajon, A. (2013). Prophenoloxidase system and its role in shrimp immune responses against major pathogens. *Fish & Shellfish Immunology*, 34(4), 990-1001.
- Anderson, D. P., & Siwicki, A. K. (1993). Basic haematology and serology for fish health programs. *Paper Presented in Second Symposium on Diseases in Asia Aquaculture "Aquatic Animal Health and The Environmental"*. Phuket Thailand.
- Asplund, M. E., Rehnstam Holm, A. S., Atnur, V., Raghunath, P., Saravanan, V., Härnström, K., Collin, B., Karunasagar, I., & Godhe, A. (2011). Water column dynamics of *Vibrio* in relation to phytoplankton community composition and environmental conditions in a tropical coastal area. *Environmental microbiology*, 13(10), 2738-2751.
- Cheng, W., Liu, C. H., Yeh, S. T., & Chen, J. C., (2004). The immune stimulatory effect of sodium alginate on the white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish and Shellfish Immunology*, 17(1), 41-51.
- Darwanti, K., Sidik, R., & Mahasri, G. (2016). Efisiensi penggunaan imunostimulan dalam pakan terhadap laju pertumbuhan, respon imun dan kelulushidupan udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 18(2), 123-139.
- De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., & Verstraete, W. (2008). The basics of bioflocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture*, 277, 125-137.
- Ekasari, J., Azhar, M. H., Surawidjaja, E. H., Nuryati, S., Schryver, & Bossier. (2014). Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon source. *Fish Shellfish Immunology*, 41, 332-339.
- [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nation. (2023). GLOBEFISH: Information and Analysis on Market Trade of Fisheries and Aquaculture. Roma: FAO.
- [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nation. (2024). The state of world fisheries and aquaculture 2024. *Sustainability In Action*. Roma : FAO.
- Ferreira, G. S., Santos, D., Schmachtl, F., Machado, C., Fernandes, V., Bögnér, M., & Vieira, F. N. (2020). Heterotrophic, chemoautotrophic and mature approaches in biofloc system for Pacific white shrimp. *Aquaculture*, 533, 736099.

- Gustilatov, M., Ekasari, J., & Pande, G. S. J. (2022). Protective effects of the biofloc system in Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) culture against pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* infection. *Fish & Shellfish Immunology*, 124 (1), 66-73.
- Gustilatov, M., Widanarni, W., Ekasari, J., Julyantoro, P. G. S., & Waturangi, D. E. (2023). Biofloc system supplemented by *Pseudoalteromonas piscicida* 1Ub protects the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* from *Vibrio parahaemolyticus* infection. *Aquaculture and Fisheries*, 1(1), 1-8.
- Hagreaves, J. A. (2013). Biofloc production system for aquaculture. *South Regional Aquaculture Center*, 4503.
- Hamsah, H., Widanarni, W., Alimuddin, A., Yuhana, M., Junior, M. Z., & Hidayatullah, D. (2019). Immune response and resistance of pacific white shrimp larvae administered probiotic, prebiotic, and synbiotic through the bio-encapsulation of *Artemia* sp. *Aquaculture International*, 27(1), 567-580.
- Harianto, E., Budiardi, T., & Sudrajat, A. O. (2014). Kinerja pertumbuhan *Anguilla bicolor bicolor* bobot awal 7 g dengan kepadatan berbeda. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 13(2), 120-131.
- Intriago, P., Medina, A., Espinoza, J., Enriquez, X., Arteaga, K., Aranguren, L. F., Shinn, A. P., & Romero, X. (2023). Acute mortality of *Penaeus vannamei* larvae in farm hatcheries associated with the presence of *Vibrio* sp. carrying the vp pir ab toxin genes. *Aquaculture International*, 1-20.
- Junda, M. (2018). Development of intensive shrimp farming, *Litopenaeus vannamei* in land-based ponds: production and management. *In Journal of Physics: Conference Series*, 1028 (1), 012020.
- Kilawati, Y., Arsad, S., Islamy, R., & Solekah, S. J. (2021). Immunostimulant from marine algae to increase performance of vanamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Aquatic Pollution and Toxicology*, 5(6), 1-11.
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2022). *Kelautan dan perikanan Dalam Angka Tahun 2022*. Jakarta (ID): Pusat Data, Statistik, dan Informasi.
- Kumar, V. S., Pandey, P. K., Anand, T., Bhuvaneswari, G. R., Dhinakaran, A., & Kumar, S. (2018). Biofloc improves water, effluent quality and growth parameters of *Penaeus vannamei* in an intensive culture system. *Environmental Management*, 215, 206-215.
- Liu, C. H., & Chen, J. C. (2004). Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish Shellfish Immunol*, 16, 321-324.
- Liu, G., Zhu, S., Liu, D., Guo, X., & Ye, Z. (2017). Effects of stocking density of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) on immunities, antioxidant status, and resistance against *Vibrio harveyi* in a biofloc system. *Fish & Shellfish Immunology*, 67, 19-26.
- Lorenzo, M. A., Poli, M. A., Candia, E. W. S., Schleder, D. D., Rodrigues, M. S., Guimarães, A. M., Seiffert, W. Q., & do Nascimento, V. F. (2016). Hatchery performance of the pacific white shrimp in biofloc system using different stocking densities. *Aquacultural Engineering*, 75, 46-50.
- Rajeev, R., Seethalakshmi, P. S., Kiran, G. S., Suárez, L. E. C., & Selvin, J. (2022). Application of *poly- β -hydroxybutyrate* in shrimp health management. *Avances en Nutrición Acuicola*, 1(1), 35-49.
- Rodríguez-Olague, D., Ponce-Palafox, J. T., Castillo-Vargasmachuca, S. G., Arámbul-Muñoz, E., de los Santos, R. C., & Esparza-Leal, H. M. (2021). Effect of nursery system and stocking density to produce juveniles of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Reports*, 20.
- Said, M. M., Abo-Al-Ela, H. G., El-Barbary, Y. A., Ahmed, O. M., & Dighiesh, H. S. (2024). Influence of stocking density on the growth, immune and physiological responses, and cultivation environment of white-leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in biofloc systems. *Scientific Reports*, 14(1), 1-15.
- Saputra, A., Maftuch, M., Andayani, S., & Yanuhar, U. (2023). Pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* causing acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Serang, Banten, Indonesia. *Biodivers J*, 24(4), 2365-2373.
- Saseendran, S., Dube, K., Chandrakant, M. H., & Rani, A. B. (2021). Enhanced growth response and stress mitigation of genetically improved farmed tilapia in a biofloc integrated aquaponic system with bell pepper. *Aquaculture*, 533 (1), 1-24.
- Suwoyo, H. S., & Hendrajat, E. A. (2021). High density aquaculture of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in controlled tank. *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 777(1), 012022.
- Tepaamorndech, S., Nookaew, I., Higdon, S. M., Santiyanont, P., Phromson, M., Chantarasakha, K., Mhuantong, W., Plengvidhya, V., & Visessanguan, W. (2020). Metagenomics in bioflocs and their

- effects on gut microbiome and immune responses in Pacific white shrimp. *Fish & shellfish immunology*, 106(4), 733-741.
- Watts, J. E. M., Schreier, H. J., Lanska, L., & Hale, M. S. (2017). The rising tide of antimicrobial resistance in aquaculture: sources, sinks, and solutions. *Marine Drugs*, 15, 158.
- Widanarni, W., Tepu, I., Sukenda, S., & Setiawati, M. (2009). Seleksi bakteri probiotik untuk biokontrol vibriosis pada larva udang windu, *Penaeus monodon* menggunakan cara kultur bersama. *Jurnal Ristek Akuakultur*, 4 (1), 95-105.
- Xu, W.J., & Pan, L. Q. (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.
- Zheng, Z., Li, R., Aweya, J. J., Yao, D., Wang, F., Li, S., Tuan, T. N., & Zhang, Y. (2021). The PirB toxin protein from *Vibrio parahaemolyticus* induces apoptosis in hemocytes of *Penaeus vannamei*: PirB induces shrimp hemocytes apoptosis. *Virulence*, 12(1), 481-492.
- Zahedi, S., Akbarzadeh, A., Mehrzad, J., Noori, A., & Harsij, M. (2019). Effect of stocking density on growth performance, plasma biochemistry and muscle gene expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 498, 271-278.