

PENGARUH PENGGUNAAN RAGI ROTI, VITAMIN B₁₂ DAN VITAMIN C SEBAGAI BAHAN PENGKAYA PAKAN TERHADAP PERTAMBAHAN POPULASI *Brachionus plicatilis*

Effect of Bakers Yeast, Vitamin B12, and Vitamin C as Nutritional Improvement of Food on The Density Production of Brachionus plicatilis

Diana Chilmawati¹, dan Suminto¹

¹Program Studi Budidaya Perairan
Jurusan Perikanan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Diponegoro
Jl. Hayam Wuruk No. 4A Semarang 50241

Diserahkan : 13 Oktober 2009; Diterima : 15 Desember 2009

ABSTRAK

Faktor penting yang menunjang usaha pembenihan adalah pakan alami yang berkualitas. Salah satu cara untuk meningkatkan kualitas pakan alami *Brachionus plicatilis* adalah pengkayaan pakannya agar produksi larva budidaya menghasilkan kualitas yang baik. *Chlorella* sp sebagai pakannya dapat dikombinasikan dengan ragi roti, vitamin B₁₂ dan vitamin C sehingga meningkatkan pertumbuhan dan kandungan nutrisi *Brachionus plicatilis* yang nantinya digunakan sebagai pakan larva. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan peningkatan populasi dan pertumbuhan *Brachionus plicatilis* dengan pengkayaan pakan yang berbeda dan mengetahui komposisi susunan pengkayaan pakan yang tepat untuk pertumbuhan *Brachionus plicatilis*. Penelitian bersifat eksperimental laboratoris dengan padat tebar awal 10 ind./ml pada wadah 5 liter. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dengan 3 ulangan. Keempat perlakuan tersebut adalah A (*Chlorella* sp), B (*Chlorella* sp + ragi roti), C (*Chlorella* sp + ragi roti + vitamin B₁₂) dan D (*Chlorella* sp + ragi roti + vitamin B₁₂ + vitamin C). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan ragi roti, vitamin B₁₂ dan vitamin C berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) masing-masing terhadap pertumbuhan populasi dengan perlakuan terbaik D dimana konstanta pertumbuhan spesifik 0,661; puncak populasi 530,4 individu/ml dan kepadatan akhir 381,7 individu/ml.

Kata Kunci: Bahan Pengkaya, Populasi, *Brachionus plicatilis*

ABSTRACT

The important factor of seedling production is live food with good quality. One way to improve quality of live food, *Brachionus plicatilis*, to gain a high quality of larvae in seedling production, is through implementing food enrichment. *Chlorella* sp, which is its live food, can be enriched by combination of baker's yeast, vitamin B12 and vitamin C, which then given, in order to increase *Brachionus plicatilis* growth and nutrition content. Purpose of this study is to acknowledge comparative population growth and improvement of *Brachionus plicatilis* with different kinds of foods enrichment, to understand the right food enrichment composition for *Brachionus plicatilis* growth. This research are laboratory experimental, with 10 ind/ml early spread density on 5 litres capacity container. The experiment using a Completely Randomize Design with 4 treatment and 3 repetitions. That four treatments included A (*Chlorella* sp), B (*Chlorella* sp + baker's yeast), C (*Chlorella* sp + baker's yeast + vitamin B₁₂), D (*Chlorella* sp + baker's yeast + vitamin B₁₂ + vitamin C). Result from the research shows that implementation of food enrichment, which using baker's yeast, vitamin B₁₂ and vitamin C, brings about a great significant differences ($p < 0,01$) in each treatment to population growth. D is the best treatment with specific growth rate of 0,661, maximal density of 530,4 ind/ml and final density of 381,7 ind/ml.

Key Words: Elements of Food Enrichment, Population, *Brachionus plicatilis*

PENDAHULUAN

Usaha pengembangan budidaya laut tidak dapat terlepas dari tahap pembenihan. Faktor penting yang menunjang usaha pembenihan adalah pakan alami yang berkualitas. *Brachionus plicatilis* banyak digunakan sebagai pakan alami dalam produksi larva budidaya karena memiliki beberapa keunggulan yaitu ukuran sesuai bukaan mulut larva, perenang lambat, mudah mengapung di kolom perairan, dapat dibudidayakan dalam kepadatan tinggi dan tingkat reproduksinya tinggi. Umumnya balai benih ikan atau laboratorium pakan alami menggunakan fitoplankton sebagai pakan *Brachionus plicatilis*, seperti *Chlorella* sp, *Nannochloropsis oculata*, *Tetraselmis chuii* atau *Chlamydomonas*. Dari keempatnya jenis fitoplankton tersebut ternyata beberapa strain *Chlorella* sp mampu menyerap vitamin B₁₂ yang terdapat dalam media kultur lebih banyak dari jenis lainnya (Yu *et al.*, 1994). Namun kemampuan *Chlorella* sp untuk mendukung kebutuhan vitamin B₁₂ *Brachionus plicatilis* kurang mencukupi sehingga perlu didukung oleh penambahan vitamin tersebut ke dalam mediana.

Pengkayaan merupakan salah satu input dalam sistem budidaya pakan alami yang harus diperhatikan susunannya. Bila susunan tidak tepat, akan menyebabkan kekurangan nutrisi atau bahkan malah kelebihan zat-zat yang justru berbahaya. Bahan pengkaya yang sering ditambahkan bersama *Chlorella* sp sebagai pakan *Brachionus plicatilis* antara lain adalah ragi roti, vitamin B₁₂ dan vitamin C. *Brachionus plicatilis* yang diberi pakan ragi roti saja pertumbuhannya tidak stabil dan nilai gizinya rendah sehingga tidak mendukung pertumbuhan larva. Yu *et al.* (1994) menyatakan bahwa ragi roti tanpa penambahan suplemen (vitamin) akan mengurangi kualitas nutrisi untuk pertumbuhan populasi *Brachionus plicatilis*. Vitamin meskipun dibutuhkan dalam jumlah kecil, juga sangat penting untuk kelangsungan hidup *Brachionus plicatilis*. Ketersediaan vitamin B₁₂ dalam media kultur sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan populasi dan penetasan telur *Brachionus plicatilis*. Sedangkan vitamin C diperlukan untuk meningkatkan daya tahan tubuh. Oleh karena itu perlu dilakukan uji susunan pengkayaan pakan yang tepat untuk meningkatkan pertumbuhan *Brachionus plicatilis*.

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah mengkaji pengaruh pengkayaan pakan yang berbeda terhadap pertambahan populasi

Brachionus plicatilis dan mengetahui susunan pengkayaan pakan yang tepat untuk pertumbuhan *Brachionus plicatilis*.

METODE PENELITIAN

Hewan uji yang digunakan adalah *Brachionus plicatilis* diambil dari kultur pakan alami Loka Budidaya Air Payau (LBAP)-Situbondo, Jawa Timur yang disaring dengan planktonnet mesh size 80 µm dengan tujuan untuk mendapatkan bibit berukuran lebih besar. Pakan uji, *Chlorella* sp, dikultur dengan menggunakan media Walne. Bahan pengkaya pakan *Brachionus plicatilis* yang digunakan adalah ragi roti = 1 gram/10⁶ individu/hari (Yu *et al.*, 1989; Kongkeo, 1991 dalam Fulks dan Main, 1991), Vitamin B₁₂ = 1,4 µg/ml dan vitamin C = 4 µg/ml (Hirayama dan Satuito, 1991^a) dalam Fulks dan Main, 1991). Perlakuan dalam penelitian ini meliputi:

1. Perlakuan A (*Chlorella* sp = kontrol)
2. Perlakuan B (*Chlorella* sp + ragi roti)
3. Perlakuan C (*Chlorella* sp + ragi roti + vitamin B₁₂)
4. Perlakuan D (*Chlorella* sp ragi roti + vitamin B₁₂ + vitamin C)

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen yang dilakukan secara laboratories. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Penanaman bibit *Brachionus plicatilis* dengan kepadatan awal 10 individu/ml dalam volume media 5 liter. Sebelum pakan diberikan perlu dilakukan pergantian air media ± 50% dengan menggunakan selang kecil dan menyaringnya dengan planktonnet mesh size 40 µm. *Brachionus plicatilis* mulai diberi pakan *Chlorella* sp setelah inokulasi dengan kepadatan 1,5 x 10⁶ sel/ml (Pourriot dalam Fulks dan Main, 1991). Pemberian pakan untuk hari selanjutnya dilakukan dengan cara menghitung sisa *Chlorella* sp dalam wadah penelitian dengan rumus menurut Erlina dan Hastuti (1983):

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Dimana :

V1 = volume yang dikehendaki untuk menambah pakan (ml)

V2 = volume air media kultur *Brachionus plicatilis* (ml)

N1 = kepadatan stok (sel/ml)

N2 = kepadatan yang dikehendaki (sel/ml)

Data pertumbuhan *Brachionus plicatilis* yang dikumpulkan meliputi data konstanta pertumbuhan spesifik ($r = \text{SGR} / \text{Specific Growth Rate}$), puncak populasi dan kepadatan

akhir. Konstanta pertumbuhan spesifik dihitung dengan rumus menurut Hagiwara *et al.*, 1993 sebagai berikut:

$$r = 1/T \ln N_T / N_0$$

Dimana :

r = populasi pertumbuhan *Brachionus plicatilis*

T =hari yang diperlukan untuk mencapai pertumbuhan maksimal

N_T =kepadatan *Brachionus plicatilis* pada hari T

N_0 =kepadatan awal *Brachionus plicatilis*

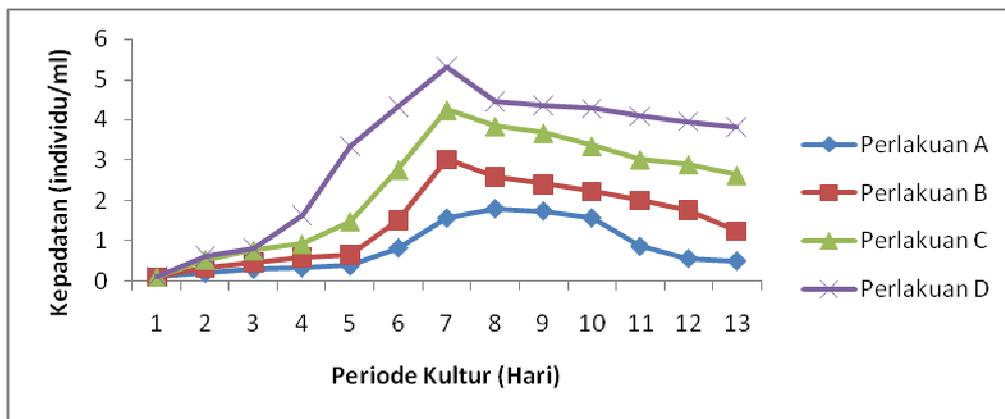
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertambahan populasi *Brachionus plicatilis* yang diukur dari nilai konstanta pertumbuhan spesifik (r), puncak populasi dan kepadatan akhir dapat dilihat dari Tabel 1, sedangkan grafik pertumbuhan *Brachionus plicatilis* dapat dilihat pada Gambar 1.

Dari grafik terlihat bahwa kepadatan *Brachionus plicatilis* terus meningkat tiap hari

hingga mencapai puncak populasi. Kepadatan pada perlakuan A mencapai maksimal pada hari ke-7. Sedangkan kepadatan pada perlakuan B,C dan D mencapai maksimal pada hari yang sama yaitu hari ke-6. Puncak populasi terbesar dicapai pada perlakuan D (530,4 individu/ml), diikuti perlakuan C (424,9 individu/ml), perlakuan B (301,8 individu/ml) dan perlakuan A (178,9 individu/ml). Sebelum mencapai puncak populasi, pertambahan populasi terjadi dengan cepat, terutama pada perlakuan yang dikultur dengan ragi roti. Pertambahan populasi menjadi dua kali lipat pada perlakuan C dan D, terjadi pada hari ke-2 dan ke-3. Keadaan tersebut juga terjadi pada perlakuan A dan B, yaitu pada hari ke-4 dan ke-5.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perbedaan bahan pengkaya berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap konstanta pertumbuhan spesifik (Tabel 2), puncak populasi (Tabel 3) dan kepadatan akhir (Tabel 4) *Brachionus plicatilis*.



Gambar 1. Grafik Pertumbuhan *Brachionus plicatilis* dengan Berbagai Perlakuan Bahan Pengkaya Pakan

Tabel 1. Pola Pertumbuhan *Brachionus plicatilis* Dengan Perbedaan Bahan Pengkaya Pakan

Perlakuan	Pola Pertumbuhan		
	Konstanta Pertumbuhan Spesifik (SGR)	Populasi Puncak ($\times 10^2$ individu/ml)	Kepadatan Akhir ($\times 10^2$ individu/ml)
A	0,405 ± 0,056	1,789 ± 0,629	0,492 ± 0,085
B	0,565 ± 0,038	3,018 ± 0,695	1,238 ± 0,264
C	0,624 ± 0,017	4,249 ± 0,428	2,626 ± 0,555
D	0,661 ± 0,021	5,304 ± 0,649	3,817 ± 0,359

Tabel 2. Analisis Ragam Konstanta Pertumbuhan Spesifik *Brachionus plicatilis*

SGR

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.115	3	.038	28.782	.000
Within Groups	.011	8	.001		
Total	.126	11			

Tabel 3. Analisis Ragam Puncak Populasi *Brachionus plicatilis*

puncak populasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	208331.6	3	69443.862	18.753	.001
Within Groups	29624.693	8	3703.087		
Total	237956.3	11			

Tabel 4. Analisis Ragam Kepadatan Akhir *Brachionus plicatilis*

kepadatan akhir

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	196155.7	3	65385.228	50.935	.000
Within Groups	10269.567	8	1283.696		
Total	206425.2	11			

Tabel 5. Uji Wilayah Ganda Duncan Konstanta Pertumbuhan Spesifik *Brachionus plicatilis*

Duncan^a

perlakuan	N	Subset for alpha = .01	
		1	2
1	3	.40500	
2	3		.56467
3	3		.62400
4	3		.66100
Sig.		1.000	.015

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Tabel 6. Uji Wilayah Ganda Duncan Puncak Populasi *Brachionus plicatilis*

puncak populasi

Duncan^a

perlakuan	N	Subset for alpha = .01		
		1	2	3
1	3	178.90000		
2	3	301.76667	301.76667	
3	3		424.90000	424.90000
4	3			530.43333
Sig.		.039	.038	.066

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Tabel 7. Uji Wilayah Ganda Duncan Kepadatan Akhir *Brachionus plicatilis*

Duncan^a

perlakuan	N	Subset for alpha = .01		
		1	2	3
1	3	49.23333		
2	3	123.76667		
3	3		262.56667	
4	3			381.66667
Sig.		.034	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Uji wilayah ganda Duncan konstanta pertumbuhan spesifik (Tabel 5), puncak populasi (Tabel 6) dan kepadatan akhir (Tabel 7) menunjukkan bahwa perlakuan terbaik adalah perlakuan D.

Dari hasil pengamatan selama 12 hari, kepadatan *Brachionus plicatilis* terus meningkat tiap hari hingga mencapai puncak populasi. Meningkatnya kepadatan tersebut karena jenis pakan yang diberikan dapat dimanfaatkan secara optimal untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup. Ukuran pakan yang diberikan lebih kecil dari bukaan mulut ikan dan nutrisi yang terkandung juga sesuai dengan yang dibutuhkan sehingga selain mendukung pertumbuhan juga reproduksi secara optimal. Dalam kondisi media yang optimum, organisme mampu beradaptasi dengan cepat dan pertambahan populasi juga terjadi dengan cepat (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Pencapaian puncak populasi menjadi lebih cepat karena didukung oleh pakan yang mengandung nutrisi optimal untuk pertumbuhannya.

Pada perlakuan A, adanya pembentukan vitamin B₁₂ dalam media kultur *Chlorella* sp mengakibatkan kepadatan menjadi dua kali lipat sejak inokulasi pertama. Walaupun demikian *Brachionus plicatilis* yang hanya diberi pakan

Chlorella sp saja mudah mengalami penurunan atau fluktuasi kandungan B₁₂ dalam tubuhnya (Hirayama dan Maruyama, 1993 dalam Sumiarsa *et al.*, 1996).

Setelah mencapai puncak populasi, kepadatan pada masing-masing perlakuan berangsur-angsur turun. Hal ini menunjukkan bahwa media kultur sudah mencapai batas optimal dimana terjadi persaingan untuk mendapatkan sumber daya yang tersedia, terutama pakan dan oksigen. Penurunan kepadatan setelah puncak populasi pada perlakuan yang menggunakan ragi roti lebih besar dari kontrol karena ketidakstabilan yang mengakibatkan kerusakan media kultur yang terjadi dengan cepat, terutama tingginya kadar NH₃ yang bersifat racun sehingga menurunkan pertumbuhan *Brachionus plicatilis* (James *et al.*, 1987). Untuk menghindari hal itu, perlu dilakukan pergantian air (Fushimi, 1989 dalam Fulks dan Main, 1991).

Campuran alga dan ragi roti akan meningkatkan pertumbuhan *Brachionus plicatilis* (Hirayama dan Funamoto, 1983 dalam James *et al.*, 1987). Tetapi pada kultur *Brachionus plicatilis* terutama yang diberi pakan ragi roti baik sebagai pakan tunggal atau campuran, konsentrasi pakan harus diusahakan

tetap stabil atau serendah mungkin karena hasil eksresi pakan menyebabkan kontaminasi cilia atau bakteri serta kerusakan media kultur (James *et al.*, 1987). Di lain pihak, bakteri dapat berfungsi sebagai pakan, penghasil vitamin B₁₂, penghasil asam lemak EPA (Eicosa Pentaenoic Acid) yang sangat esensial untuk pertumbuhan dan sebagai probiotik untuk melawan bakteri pathogen (Hoff dan Snell, 1987). Menurut Reguera (1984) dalam Fulks dan Main (1991), kontaminasi Cilia akan menurunkan pertumbuhan *Brachionus plicatilis*. Pada masing-masing media kultur penelitian ini ditemukan organisme bersilia, yaitu *Euplotes* sp. Organisme ini ikut memanfaatkan pakan yang sebenarnya diberikan untuk *Brachionus plicatilis*. Di antaranya terjadi persaingan sehingga mempengaruhi pertumbuhan *Brachionus plicatilis*. Pada kondisi ini, diperlukan vitamin C untuk meningkatkan kekebalan terhadap infeksi bakteri dan menanggulangi pengaruh merugikan akibat stress lingkungan sehingga tidak menurunkan produktifitas (Wanasuria, 1993).

Hirayama dan Funamoto (1983) dalam Hirayama dan Satuito (1991) menyatakan bahwa ragi roti yang nilai nutrisinya rendah (menurut Imada (1980) mengandung 1,3% Ω₃-HUFA, lebih rendah dibanding *Chlorella* sp, yaitu 29%) mampu meningkatkan pertumbuhan *Brachionus plicatilis* jika diberikan bersamaan dengan vitamin B₁₂. Fungsi utama asam lemak esensial adalah berhunungan dengan peranannya sebagai fosfolipid. Asam lemak esensial terdapat dalam konsentrasi tinggi pada fosfolipid dan berperan penting dalam mempertahankan fleksibilitas dan permeabilitas membran biologi, transport lipid, dan aktifitas enzim tertentu (Kanazawa, 1980 dalam Lewis *et al.*, 1998).

Pada perlakuan B, pertumbuhan lebih tinggi dari perlakuan A, karena didukung oleh pemberian ragi dan persediaan vitamin B₁₂. Ragi roti juga mengandung vitamin B₁₂ walaupun sedikit (Hirayama, 1987). Dilaporkan oleh Yu *et al.* (1989) bahwa kandungan vitamin B₁₂ dalam ragi roti sebesar 0,12 µg/kg berat kering. Ragi roti selain dapat membantu penguraian karbohidrat di dalam saluran pencernaan juga merangsang kerja dari amylase dan sebagai profein sehingga akan memperkaya kandungan protein dari *Brachionus plicatilis*. Fungsi lain ragi roti adalah membentuk zat-zat anti bakteri dan bermanfaat bagi pertumbuhan asam amino dan gula yang dikeluarkan oleh bakteri fotosintetik dan bahan organik.

Pertumbuhan *Brachionus plicatilis* terbaik didapatkan pada perlakuan D. Hal ini

menunjukkan bahwa dengan pemberian ragi roti, vitamin B₁₂ dan vitamin C dapat meningkatkan nilai nutrisi pakan *Brachionus plicatilis* sehingga tingkat pertumbuhan juga tinggi.

Pertumbuhan yang buruk akan menurunkan efisiensi penyerapan pakan termasuk juga vitamin B₁₂ yang sangat esensial untuk pertumbuhan. Hal ini karena masih terdapat residu vitamin B₁₂ dalam media masing-masing perlakuan jika kultur dilakukan secara berkesinambungan (Sumiarsa, 1996). Vitamin B₁₂ yang terkandung dalam tubuhnya akan berkurang. Seperti halnya organisme akuatik lainnya, hilangnya material organik dan nutrisi dalam tubuh *Brachionus plicatilis* akan menyebabkan penurunan berat sehingga mengakibatkan penurunan tingkat pertumbuhan dan bahkan kematian. Pada kondisi ini, keberadaan vitamin C penting untuk mengurangi stress akibat perubahan lingkungan media.

KESIMPULAN

1. Penggunaan ragi roti, vitamin B₁₂ dan vitamin C sebagai bahan pengkaya pakan *Brachionus plicatilis* berpengaruh sangat nyata terhadap pertambahan populasi (yang digambarkan oleh parameter pertumbuhan yaitu konstanta pertumbuhan spesifik, puncak populasi dan kepadatan akhir).
2. Pemberian pakan alami *Chlorella* sp yang diperkaya dengan ragi roti (dosis 1 µg/ml), vitamin B₁₂ (dosis 1,4 µg/ml) dan vitamin C (dosis 4 µg/ml) terhadap *Brachionus plicatilis* memberikan hasil pertambahan populasi yang tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Krisna Perwarini, Ir. Titik Susilowati, MS atas semua kritik dan saran, Kepala dan semua staf Loka Budidaya Air Payau (LBAP) Situbondo Jawa Timur yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini. Dan semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

DAFTAR PUSTAKA

- Erlina, A. dan Hastuti, W.S. 1983. Cara Mengkultur Alga. INFIS (Indonesia Information System)
- Fulks, Wendy and Kevan L. Main. 1991. Rotifer and Microalgae Culture System.

- Proceedings of a U.S. Asia Workshop. The Oceanic Institute Makapuu Point P.O. Box 25280 Honolulu, Hawaii - 96825.
- Hagiwara, A, K. Hamada, A Nishi, K. Imaizumi and K. Hirayama. 1993. Dietary value of neonates from rotifer *Brachionus plicatilis*. Nippon Suisan Gakkaishi. 59 (1) : 99 – 104
- Hirayama, K. 1987. A consideration of why mass culture of the *Brachionus plicatilis* with baker's yeast is unstable. In : Linda May, Wallace, R. and Herzig, A. (eds.). Rotifer Symposium IV. Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht – printed in Netherland. p. 269-270.
- Hirayama, K. and C.G. Satuito, 1991. The nutritional improvement of baker's yeast for the growth of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. In : Wendy Fulks and Kevan L. Main. Rotifer and Microalgae Culture System. Proceedings of a U.S. – Asia. The Oseanic Institute Makapuu Point P.O. Box 25280 Honolulu, Hawaii – 96825.
- Hoff, H. Frank and Terry W. Snell. 1987. Plankton culture Manual Fourth Edition. Published by Florida Aqua Farms, Inc., Florida.
- Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton sebagai Pakan Alami. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Imada, O. 1980. The yeast supplemented with fish liver oil as feeds for rotifer. Zoshoku: 17 (5): p. 123 - 125
- James M., Charles, P. Dias and Assad E. Salman. 1987. The use of marine yeast (*Candida* sp) and baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in combination with *Chlorella* sp for mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. In: Linda May, Wallace R. and Herzig, A. (eds.). Rotifer Symposium IV. Dr.W. Junk Publishers, Dordrecht – printed in Netherland. p. 375-378.
- Lewis, T., P.D. Nichols, Piers R.H., D.S. Nichols and T.A. Mc Meekin. 1998. Enrichment of rotifers *Brachionus plicatilis* with eicosapentanoic acid and docosahexaenoic acid produced by bacteria. Journal of the world aquaculture society. 29 (3) : September 1998.
- Sumiarsa, G.S., Dahlan Makatutu dan Ibnu Rusdi. 1996. Pengaruh vitamin B₁₂ dan pengkayaan fitoplankton kepadatan tinggi terhadap kepadatan dan kualitas rotifer (*Brachionus rotundiformis*). Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia. Vol. 2 No. 2 Tahun 1996. (Edisi Khusus).
- Wanasuria, Suharja. 1993. Vitamin C untuk pakan akuakultur. Primadona Edisi Oktober 1993. Halaman 12 – 16.
- Yu, Jian-Ping, K. Hirayama, A. Hino. 1994. The role of bacteria in mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture. Suppl. 1 : 67-70.