# SKREENING BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) BERSIFAT AMILOLITIK DARI GASTROINTESTINAL LOBSTER AIR TAWAR (CHERAX QUADRICARINATUS)

# Screening of Lactic Acid Bacteria (LAB) is Amilolitic of Gastrointestinal Freshwater Lobster (<u>Cherax quadricarinatus</u>)

#### Hasniar

Email: niar6691@yahoo.com Jurusan Budidaya Perikanan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkep

#### **Dahlia**

Email: unga\_dahlia@yahoo.com Jurusan Budidaya Perikanan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkep

#### Seniati

Email: seniatipasca@gmail.com Jurusan Budidaya Perikanan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkep

#### ABSTRAK

Penelitian bertujuan ini adalah untuk mengisolasi bakteri asam laktat dari gastrointestinal lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*), yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan mempercepat pertumbuhan bakteri menguntungkan yang menghasilkan lebih banyak jumlah enzim kontribusi dalam penyerapan nutrisi. Isolasi bakteri dilakukan dengan pembiakan bakteri di MRS dan MRSA media dan digojok selam 24 - 48 jam. koloni yang berbeda dipindahkan ke MRSA media isolasi. bakteri terisolasi secara fisik dan kimia dianalisis. Konfirmasi koloni terisolasi dilakukan dengan menggunakan CaCO<sub>3</sub> dan analisis ketahanan pada kondisi asam (pH 2). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada 9 spesies bakteri yang diisolasi dari gastrointestine yang memiliki karakteristik fisik dan kimia yang berbeda. Enam dari mereka adalah bakteri asam laktat benar. Setelah analisis resistensi yang dilakukan pada asam lambung, ada 3 isolat resisten pada pH 2. isolat ketiga kemudian disimpan sebagai laktat kandidat bakteri asam. Untuk mengkonfirmasi isolat ketiga sebagai bakteri asam laktat, diperlukan analisis lebih lanjut terdiri dari analisis perekat, analisis tahan suhu, analisis antagonis dan analisis fakultatif.

# Kata kunci: lobster, gastrointestinal, isolasi, BAL, probiotik.

#### **ABSTRACT**

Aim of the study was to isolate lactic acid bacteria from gastrointestinal freshwater lobster (<u>Cherax quadricarinatus</u>), which is capable to inhibit growth of pathogenic bacteria and accelerate growth of mutual bacteria that produce more amounts of enzyme contributing in absorption of nutrient. Isolation of the bacteria was conducted by culturing the bacteria in MRS and MRSA media and shaking for 24 - 48 h. Different colony was transferred to MRSA media for isolation. Isolated bacteria were physically and chemically analyzed. Confirmation of the isolated colony was conducted by using  $CaCO_3$  and resistance analysis on acid condition (pH 2). Results of the study

showed that there are 9 species of bacteria isolated from gastrointestine that have different physical and chemical characteristics. Six of them were truly lactic acid bacteria. After conducted resistance analysis on stomach acid, there were 3 isolates to be resistant at pH 2. The third isolates were then kept as lactic acid bacteria candidate. To confirm the third isolates as lactic acid bacteria, it is required further analysis consisting of adhesive analysis, temperature resistant analysis, antagonistic analysis and facultative analysis.

Keywords: freshwater lobster, gastrointestinal, isolation, lactic acid, growth.

#### **PENDAHULUAN**

Budidaya *C*. quadricarinatus hampir tidak mengalami kesulitan yang berarti dalam penanganan kualitas air maupun penyakit. Organisme ini juga dikenal sebagai komoditas yang tahan terhadap penyakit bila dibandingkan dengan ikan air tawar lainnya (Lukito dan Prayugo, 2007). Namun permasalahan muncul adalah waktu pemeliharaan yang dibutuhkan untuk mendapatkan ukuran komsumsi terbilang lama mencapai 6-7 bulan, sehingga dalam setahun hanya mampu produksi maksimal dua kali setahun. Beberapa tahun terakhir mulai berkembang teknik budidaya lobster air sehingga masyarakat memahami cara atau teknik budidayanya (Setiawan, 2006).

Masalah lain yang muncul adalah, harga pakan buatan tergolong mahal, disebabkan oleh tingginya kandungan protein dalam pakan buatan. Protein merupakan sumber energi pakan yang mahal, terutama protein yang bersumber dari tepung ikan. Protein merupakan zat terpenting dari semua zat gizi yang diperlukan ikan karena merupakan penyusun dan sumber energi bagi ikan. Pada ikan, protein lebih efektif digunakan sebagai sumber daripada energy karbohidrat. Hal ini disebabkan rendahnya aktivitas enzim amilase dalam saluran pencernaan ikan dibandingkan

dengan hewan lainnya dan manusia.

Upaya peningkatan aktivitas enzim amilase perlu dilakukan sehingga penggunaan protein sebagai sumber energi dapat dikurangi dan pemanfaatan karbohidrat sebagai sumber energi dapat ditingkatkan. Protein diharapkan berguna untuk pertumbuhan dan mengganti sel-sel yang rusak/mati, bukan sebagai sumber energi utama. Meningkatnya penggunaan karbohidrat oleh ikan diharapkan dapat mengurangi kadar protein dalam komposisi pakan buatan. Dengan demikian dapat menurunkan harga pakan. Peningkatan kadar karbohidrat dalam pakan juga berdampak positif terhadap kualitas air, yakni dapat mengurangi kandungan amoniak. Penggunaan protein yang tinggi sebagai sumber energi menyebabkan kelebihan nitrogen yang akan dibuang dalam bentuk amoniak melalui sistem sekresi (Cho dan Kaushik, 1985). Sedangkan amoniak merupakan senyawa racun bagi ikan, sekalipun pada kadar yang rendah.

Salah satu solusi yang dapat dikaji dan dikembangkan melalui percobaan untuk mengatasi masalah tersebut adalah menciptakan kondisi yang baik dalam saluran pencernaan lobster yang mendukung untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroflora menguntungkan. Selain itu dengan meningkatkan aktivitas enzim amylase dalam saluran pencernaan. Kedua hal ini dapat dicapai

memanfaatkan dengan bakteri yang menghasilkan mampu asam laktat sebagai bacteriocyn sehingga mampu pertumbuhan menekan mikroflora saluran pencernaan. patogen dalam Beberapa peneliti telah melakukan uji coba peranan bakteri asam laktat dalam menciptakan kondisi yang baik dalam saluran pencernaan diantaranya adalah Ajitha (2004) dan Vasquez, et al., 2005. Bakteri ini tergolong dalam jenis Bakteri Asam Laktat (BAL) yang diharapkan dapat sekaligus bersifat amilolitik yang menghasilkan enzim amylase dalam jumlah banyak dalam saluran pencernaan.

#### **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini berlangsung di Laboratorium Kesehatan Ikan Jurusan Budidaya Perikanan Politeknik Pertanian Negeri Pangkep, selama 4 bulan. Bahan yang digunakan adalah media MRS, MRSA, CO<sub>2</sub>, alkohol, akuadest, pati, paper disk, biakan *A. Hydrophyla* sedangkan peralatan yang digunakan adalah inkubator, inkubator refrigerator, shaker, laminar air flow, tabung reaksi, spray, bunsen.

#### Pelaksanaan Penelitian

# a. Isolasi Bakteri Asam Laktat

Pengambilan isi saluran pencernaan lobster air tawar sebagi sumber inokulum dilakukan dengan mengeluarkan organ saluran pencernaan (lambung dan usus dari lobster fase dewasa yang telah dimatikan. Saluran pencernaan (gastrointestinal) lobster air tawar dicuci dengan larutan fisiologis (NaCl 0,85%) steril kemudian timbang sebanyak 1 gram, gerus hingga halus lalu

ditambahkan 9 ml MRS Broth. Inkubasi 24 jam dengan suhu 30°C. Selanjutnya pipet 0,1 ml dan kultur pada media MRS plate. Inkubasi selama 24 jam dengan suhu 30°C. Koloni yang berwarna kuning diisolasi pada media MRS plate menurut petunjuk Nirunya (2007). Lakukan isolasi bertingkat untuk mendapatkan biakan bakteri yang murni.

Isolat mikroba yangg sudah murni dikarakterisasi secara fisiologis biokimia. Data mikroba yang diperoleh dianalisis secara deskriptif, yaitu membandingkannya dengtan literatur pendukung yaitu Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Uii morfologis atau uji fisik bertujuan untuk melihat bentuk sel, type penggandengan sel dan sifat reaksi gram. Cara pengujian ini adalah melakukan pewarnaan gram bakteri. kemudian diamati dengan mikroskop dengan pembesaran 100 x untuk melihat sifat reaksi gram, bentuk dan type penggandengan sel.

# b. Pengujian Aktifitas Antogonistik atau konfrontasi terhadap bakteri patogen

Pengujian aktifitas antagonistik bertujuan untuk mengetahui kemampuan suatu bakteri dalam menghambat atau mematikan mikroorganisme pathogen (Bahēre, *et al.*, 2000). Pengujian aktivitas antagonistik dilakukan dengan metode difusi assay dengan kertas cakram. Kultur bakteri *A. Hydrophila* dengan kepadatan yang telah teruji LD<sub>50</sub> sebanyak 0,05 ml pada media TSA plate. Ratakan dengan stick kaca di seluruh permukaan media agar. Masukkan kertas cakram dengan diameter 6 mm yang sebelumnya telah dicelup pada biakan kandidat bakteri *Probiotik* dengan kepadatan 10<sup>6</sup>, 10<sup>7</sup>, 10<sup>8</sup>

dan 10<sup>9</sup> ke dalam masing-masing media TSA yang berbeda. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali (*triplo*) untuk mendapatkan nilai rata-rata zona hambat. Inkubasi pada suhu 29<sup>0</sup>C dan lakukan pengamatan perkembangan zona hambat pada jam ke 24.

# c. Ketahanan terhadap suhu

Pengujian juga dilakukan terhadap kemampuan tumbuh bakteri pada suhu 5°C, 20°C dan 30°C. Isolat ditumbuhkan pada kondisi suhu yang berbeda-beda untuk menentukan suhu optimum pertumbuhan probiotik.

# d. Pengujian Fakultatif

Pengujian ini bertujuan untuk mengkaji kemampuan isolat mikroba tumbuh pada media dengan dua keadaan, yaitu aerob dan anaerob sehingga dapat digunakan untuk menentukan golongan isolat yaitu golongan mikroba aerob, anaerob atau fakultatif (dapat tumbuh pada aerob dan anaerob).

#### e. Uji aktivitas amylase

Media kultur agar yang mengandung pati dimasukkan ke dalam cawan petri. Isolat yang diuji diinokulasi ke dalam media agar dengan cara menempatkan 1 mata ose biakan di tengah cawan, kemudian disebar seluar 0,5 cm. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 sampai 48 jam. Hidrolisis pati diukur dengan memberikan tetes larutan lugols iodine di atas permukaan media agar. Gunakan larutan lugols iodine secukupnya untuk menutupi permukaan media agar. Jika terjadi proses hidrolisis pati terlihat daerah bening di sekeliling koloni mikrob, senaliknya bila tidak terjadi hidrolisis daerah sekitar koloni mikrob berwarna biru kehitaman. Diameter wilayah yang dihidrolisis diukur.

# f. Teknik Pengumpulan Data

Pengambilan data untuk pengujian ketahan terhadap suhu dihitung dengan melihat jumlah koloni tumbuh setiap perlakuan suhu sedangkan pengambilan data uji ketahanan terhadap asam lambung dan garam empedu diambil dengan melihat jumlah bakteri yang tumbuh pada pH 2. Pengujian fakultatif diukur dengan melihat kemampuan bakteri untuk bertumbuh pada kondisi aerob maupun aerob. Data kemampuan menghidrolisis pati dihitung dengan mengukur lebar zona bening. Sementara data kemampuan mikroba untuk menempel di dapatkan dengan menghitung jumlah populasi yang melekat pada plat stainless stell.

# **Analisis Data**

Data yang diperoleh dari seluruh tahapan penelitian dianalisa secara deskriptif dengan melihat keterkaitan data satu sama lainnya.

# HASIL DAN PEMBAHASAN

# Isolasi Bakteri Asam Laktat

Isolasi bakteri probiotik adalah suatu memisahkan atau memindahkan bakteri dari sampel ke dalam media kultur dengan melalui proses mikrobiologi sehingga bakteri yang dimaksud dapat terdeteksi sifat dan jenisnya (Gomez-Gil, et al., 2000). Lobster air tawar sebagai hewan uji dalam penelitian ini berukuran ±200 g dengan panjang  $\pm$  20–25 cm. Hasil isolasi



Gambar 1. Isolat murni kandidat BAL dari gastrointestinal lobster air tawar (Cherax quadricarinatus).

bakteri dari gastrointestinal lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*) pada media selektif BAL (MRS dan MRSA) ditemukan 9 isolat yang selanjutnya diberi kode HS1, HS2 hingga HS9 (Gambar 1).

Bakteri yang sudah murni kemudian dikarakterisasi untuk mengetahui sifat dan karakteristik sel bakteri (Bromberg *et al*, 2001). Kegiatan perlu dilakukan sebagai langkah awal dalam melakukan seleksi probiotik selanjutnya.

# Seleksi Bakteri Asam Laktat

# 1) Pengujian fakultatif

Kemampuan kandidat BAL dapat bertumbuh pada kondisi aerob maupun

anaerob diketahui dengan melakukan pengujian dengan mengkultur kandidat BAL pada ruang yang dialiri dengan CO<sub>2</sub> (anaerob) dan pada inkubator biasa (aerob). Bagi kandidat BAL yang dapat tumbuh pada kondisi anaerob maupun aerob berarti bersifat fakultatif (Tabel 1).

pengujian menunjukkan Hasil HS1, HS4, HS7, HS8 dan HS9 bersifat fakultatif yaitu mampu bertumbuh pada kondisi aerob maupun anaerob. Pertumbuhan isolat HS9 sangat pesat kondisi anerob, melebihi pertumbuhan pada kondisi aerob. Hal ini berarti isolat HS9 memiliki kemampuan untuk bertumbuh di dalam usus maupun lambung, dimana kedua organ tersebut merupakan tempat anaerob atau kondisi oksigen yang sangat minim. Isolat HS1,

Tabel 1. Hasil pengujian fakultatif kandidat BAL.

Kode isolat	Kondisi aerob	Kondisi anaerob	Ket.
HS1	Tumbuh dengan baik	Tumbuh dengan baik	Fakultatif
HS2	Tumbuh, tapi lambat	Tidak tumbuh	Non fakultatif
HS3	Tumbuh, tapi lambat	Tidak tumbuh	Non fakultatif
HS4	Tumbuh dengan baik	Tumbuh tapi sedikit lambat	Fakultatif
HS5	Tumbuh dengan baik	Tidak tumbuh	Non fakultatif
HS6	Tumbuh dengan baik	Tidak tumbuh	Non fakultatif
HS7	Tumbuh dengan baik	Tumbuh dengan baik	Fakultatif
HS8	Tumbuh dengan baik	Tumbuh dengan baik	Fakultatif
HS9	Tumbuh dengan baik	Pertumbuhan lebih pesat dari kondisi aerob	Fakultatif +

No	Kode	Diameter zona hambat (cm)			m)	Keterangan
	isolat	Ulangan	Ulangan	Ulangan	Rata-rata	
		1	2	3		
1	HS1	1,5	1,5	1,4	1,47	Zona yang dimaksud adalah zona pertumbuhan bakteri kandidat BAL yang tumbuh disekitar kertas cakram
2	HS2	0,9	0,8	0,8	0,83	
3	HS3	0,8	0,8	0,8	0,80	
4	HS4	0,7	0,7	0,8	0,73	
5	HS5	-	-	-	-	Tidak ada zona bening
6	HS6	0,8	0,7	0,8	0,77	_
7	HS7	1,4	1,2	1,2	1,27	
8	HS8	1,1	1,1	1,1	1,1	
9	HS9	1,3	1,2	1,3	1,27	

Tabel 2. Hasil pengukuran zona hambat beberapa isolat bakteri kandidat BAL terhadap bakteri Aeromonas hydrophila.

HS7 dan HS8 juga mengalami pertumbuhan yang optimal baik pada aerob kondisi maupun anaerob. Sedangkan isolat HS2, HS3, HS3, HS5 dan HS6 dapat bertumbuh pada kondisi aerob namun pada kondisi anaerob mengalami pertumbuhan yang sangat lambat bahkan ada yang tidak dapat tumbuh sama sekali.

# 2) Pengujian aktivitas antogonistik atau konfrontasi terhadap bakteri pathogen

Untuk mengetahui daya hambat (biokontrol) berbagai jenis bakteri kandidat BAL, maka dilakukan uji tantang secara in vitro dengan bakteri *A. hydrophila*. Setelah diinkubasi selama 24 jam, dari 9 isolat yang diperoleh dari gastrointestinal lobster air tawar, terdapat 7 jenis isolat yang menunjukkan respon antagonis dengan adanya zona bebas bakteri di sekeliling kertas cakram (Tabel 2). Hal ini seiring dengan hasil temuan dari Ananthaya dan Mongkol (2009),

bawah dari gastrointestinal lobster air tawar terdapat bakteri probiotik dari genus *Bacillus* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophyla*.

antagonistik Pengujian konfrontasi terhadap bakteri patogen bertujuan untuk menyeleksi bakteri yang bersifat agen protectiv terhadap bakteri yang bersifat pathogen. Kemampuan laktat suatu bakteri asam dalam memproteksi atau menghambat pertumbuhan bakteri pathogen dapat dilihat lebar zona bening yang muncul disekitar isolat. Semakin lebar zona bening maka semakin tinggi kemampuannya dalam menghambat bakteri pathogen.

Hasil pengujian antagonistik atau konfrontasi terhadap bakteri pathogen menunjukkan isolat HS7 dan HS9 memiliki lebar zona terluas sehingga kedua isolat ini memiliki kemampuan tertinggi dalam menghambat bakteri patogen menyusul isolat HS8. Isolat yang memiliki sifat antagonistik dapat

Kode	Kemampuan bertumbuh pada suhu			
isolat	5°C	20°C	30°C	
HS 1	-	Pertumbuhan maksimal	Pertumbuhan maksimal	
HS 2	-	Pertumbuhan lambat	Pertumbuhan maksimal	
HS 3	-	Pertumbuhan lambat	Pertumbuhan maksimal	
HS 4	-	-	Pertumbuhan maksimal	
HS 5	-	-	Pertumbuhan maksimal	
HS 6	-	-	Pertumbuhan maksimal	
HS 7	-	Pertumbuhan sedang	Pertumbuhan maksimal	
HS 8	-	Pertumbuhan sedang	Pertumbuhan maksimal	
HS 9	_	Pertumbuhan sedang	Pertumbuhan maksimal	

Tabel 3. Hasil pengujian ketahanan terhadap suhu dari semua kandidat BAL.

dilakukan uji lanjut sehingga dapat digunakan sebagai probiotik dalam pencernaan maupun dalam perairan. Bakteri yang bersifat antagonistik dapat digunakan untuk memperbaiki kondisi perairan sehingga perairan menjadi layak untuk dijadikan media budidaya (Isnansetyo, 2005; Irianto, 2003). Sedangkan isolat HS2, HS3, HS4, HS6 memiliki kemampuan yang sangat lemah dalam menghambat bakteri pathogen ditandai dengan kecilnya zona bening di sekitar isolat. Sedangkan isolat HS5 tidak memiliki zona bening atau dengan kata lain tidak memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri pathogen.

#### 3) Ketahanan terhadap suhu

Uji ketahanan terhadap suhu bertujuan untuk melihat kemampuan kandidat BAL bertumbuh pada suhu yang ruang (30°C), suhu sedang (20°C) dan suhu dingin (5°C), ditun

Hasil uji ketahanan terhadap memperlihatkan semua isoslat tidak dapat bertumbuh pada suhu yang sangat rendah yaitu sekitar 5°C, dan beberapa isolat mulai bertumbuh pada suhu 20°C, walaupun pertumbuhannnya terbilang

lambat atau sedang. Suhu 30°C semua isolat mengalami pertumbuhan yang maksimal.

# Pengujian Aktivitas Enzim Amilase

Pengujian aktivitas enzim amilase dilakukan terhadap 9 isolat bakteri dan didapatkan perbedaan lebar zona bening dari masing-masing isolat (Tabel 4).

Hasil pengujian aktivitas enzim amilase menunjukkan bahhwa isolat HS7 dan HS9 positif menghidrolisis sumber karbohidrat dengan baik disusul dengan isolat HS8, HS3, HS4, HS6 dan HS2. Hal ini ditandai dengan adanya zona bening disekitar koloni isolat yang ditumbuhkan pada media agar. Zona bening tersebut menunjukkan bahwa makromolekul yang menjadi sumber karbohidrat dihidrolisis dan dimanfaatkan sebagai sumber energi oleh mikroba. Sedangkan isolat HS1 dan HS5 tidak menghasilkan enzim amilase ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening disekitar biakan.

Kemapuan suatu bakteri dalam menghasilkan senyawa kimia berupa enzim amilase akan sangat bermanfaat dalam hubungannya dengan efisiensi pakan pada budidaya lobster. Keberadaan

No	Kode isolat	Diameter zona bening (cm)				
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata	
1	HS1	-	-	-	Tidak ada	
2	HS2	0,6	0,6	0,6	0,6	
3	HS3	0,7	0,7	0,8	0.733	
4	HS4	0,8	0,6	0,7	0,70	
5	HS5	-	-	-	Tidak ada	
6	HS6	0,7	0,7	0,6	0,67	
7	HS7	0.9	1,2	1.1	0,87	
8	HS8	0.9	0,8	0,9	0,87	
9	HS9	1,2	1,2	1,0	1,13	

Tabel 4. Hasil pengujian aktivitas enzim amilase dari 9 kandidat BAL.

bakteri yang mampu menghasilkan senyawa kimia berupa anzim amilase dalam usus lobster dalam jumlah banyak akan membutuhkan karbohidrat juga dalam jumlah banyak dalam proses metabolismenya. Sehingga protein sebagai sumber energi utama selama ini dapat tergantikan oleh karbohidrat.

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

Kesimpulan yang diperoleh pada penelitian ini adalah:

- a) Hasil seleksi bakteri asam laktat dengan pengujian ketahanan terhadap asam lambung didapatkan dua isolat terbaik yaitu HS6 dan HS7.
- b) Hasil seleksi bakteri asam laktat dengan pengujian fakultatif didapatkan 3 isolat terbaik yang mampu tumbuh baik kondisi aerob maupun anaerob yaitu HS9, HS8 dan HS7.
- c) Hasil seleksi bakteri asam laktat dengan pengujian antagonistik atau konfrontasi terhadap bakteri pathogen didapatkan 3 isolat terbaik yaitu HS9, HS8 dan HS7.
- d) Hasil seleksi bakteri asam laktat dengan pengujian ketahanan

- terhadap suhu menunjukkan semua isolat tumbuh optimal pada suhu 30°C.
- e) Hasil seleksi bakteri asam laktat dengan pengujian aktivitas enzim amilase didapatkan dua isolat terbaik yaitu HS9 dan HS7.
- f) Berdasarkan analisa hasil pengujian konfrontasi terhadap bakteri pathogen, ketahanan terhadap suhu, ketahanan terhadap asam lambung, pengujian fakultatif serta pengujian aktivitas enzim amilase maka disimpulkan dari sembilan isolat kandidat bakteri asam laktat terseleksi 3 isolat yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi probiotik amiloltik yaitu HS9, HS8 dan HS7.

Disarankan isolat bakteri asam laktat yang diperoleh dapat dilanjutkan untuk diformulasi ke dalam pakan buatan dengan kompoisi kandungan karbohidrat yang lebih tinggi dari pada kandungan protein. Harapannya posisi protein sebagai sumber energi utama dapat tergantikan oleh karbohidrat, biaya pakan akan lebih murah serta laju pertubuhan lobster akan lebih cepat sehingga biaya produksi akan lebih kecil.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Ananthaya S. and Mongkol T. 2009. Anti-Aeromonas hydrophila activity and characterisation of novel probiotic strains of Bacillus subtilis isolated from the gastrointestinal tract of giant freshwater prawns. Thailand.
- Bahēre E, Destoumieeux D, Bulet P. 2000. Penaeidins, antimicrobial peptides of shrimp: a comparison with other effectors of innate immunity. Aquaculture 191: 71-88.
- Bromberg, R., I. Moreno, C.L. Zaganini, R.R Delboni, V.N. Moreira, J. Oliveira, and A.L.S. Lerayer. 2001. Characterization of Bacteriocin-Producing Lactic Acid Bacteria Isolated from Meat and Meat Products (abs). *IFT Annual Meeting* 2001. New Orleans, Lousiana.
- Cho CY, Kaushik SJ. 1985. Effects of Protein Intake on Metabolizable and Net Energy Values of Fish Diets. Dalam: Nutrition and Feeding in Fish. London: Academic Press London. Hlm 95-117.
- Gomez-Gil, B., Roque, A., and Tumbull, J.F. 2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in the cultureof larval aquatic organisms. Aquaculture 191, 259–270.

- Isnansetyo, A. 2005. Bakteri Antagonis sebagai Probiotik untuk Pengendalian Hayati pada Akuakultur. Jurnal Perikanan: Vol. VII (1): 1-10.
- Irianto A. 2003. *Probiotik Akuakultur*.

  Jogjakarta: Gadjah Mada
  University Press.
- Lukito, A. dan Prayugo. S. 2007. *Panduan Lengkap Lobster Air Tawar*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Nirunya, B., 2007. Scireening of lactic acid bacteria gastrointestinal tract of marine fish for their potensial use as probiotics. Thailand.
- Ajitha, S. 2004. Probiotic Effects of Lactic Acid Bacteria Against *Vibrio Alginolyticus* in *Penaeus* (Fenneropenaeus) *Indicus* (H.Milne Edwards).
- Setiawan, C. 2006. Teknik Pembenihan & Cara Cepat Pembesaran Lobster Air Tawar. Jakarta : AgroMedia Pustaka.
- Vasquez, J.A., Gonzales, M.P. and Murado,. M.A. 2005. Effects of Lactic Acid Bakteria Cultures on Pathogenic Microbiota From Fish. Aquaculture 245:149-161.