

# PEMANFAATAN BAKTERI ASAM LAKTAT YANG DIISOLASI DARI SALURAN PENCERNAAN IKAN KERAPU TIKUS (*Cromileptes altivelis*) SEBAGAI BIOKONTROL BAKTERI *Vibrio alginolyticus*

Wa Ode Safia<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Staf pengajar Fakultas Perikanan Universitas Dayanu Ikhsanuddin Bau-bau

## ABSTRAK

Dalam upaya memberantas penyakit mulai dipertimbangkan pembatasan penggunaan antibiotik untuk pengendalian penyakit. Hal ini disebabkan penggunaan antibiotik dapat meninggalkan residu pada tubuh ikan dan menimbulkan resistensi pada bakteri patogen jika digunakan dalam waktu yang lama. Oleh karena itu, alternatif lain yang perlu dilakukan untuk mengendalikan penyakit tanpa penggunaan antibiotik salah satunya adalah pemanfaatan bakteri asam laktat. Zat antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan menekan pertumbuhan bakteri patogen.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri asam laktat pada ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) sebagai hewan uji dan menganalisis pengaruh bakteri asam laktat sebagai pengendali hayati *Vibrio alginolyticus*. Penelitian dilakukan dalam tiga fase, yaitu fase I bakteri laktat yang diisolasi dari alat pencernaan tikus (*Cromileptes altivelis*), uji coba fase II bakteri in-vitro bakteri asam laktat *Vibrio alginolyticus* dan uji klinis fase III bakteri patogenitas tes pencampuran bakteri asam laktat dalam makanan.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat 14 isolat pada ikan kerapu gastrointestinal (*Cromileptes altivelis*). Isolat bakteri asam laktat berdasarkan uji in vitro terdapat tiga genera yang memberikan zona penghambat terbesar yaitu *Lactobacillus* sp (1,49 mm), *Streptococcus* sp (1:29 mm) dan *Lactococcus* sp (1,15 mm). Uji in-vivo yang memberikan tingkat hidup tertentu *Lactobacillus* sp (76,66%), *Lactococcus* sp (63,33%), *Streptococcus* sp (46,66%) dan kontrol (40%). Bakteri asam laktat *Lactobacillus* dan *Lactococcus* sp dapat meningkatkan nilai dan aktivitas lisozim.

Kata kunci: *Cromileptes altivelis*, bakteri asam laktat, *Vibrio alginolyticus*

## PENDAHULUAN

Penanggulangan penyakit merupakan faktor yang sangat penting dalam usaha budidaya perikanan. Jika penanganan penyakit tidak dilakukan dengan tepat dan serius maka akan berakibat timbulnya kerugian moril dan materil yang cukup besar. Banyak faktor yang mempengaruhi munculnya penyakit pada ikan peliharaan baik yang disebabkan oleh faktor luar dari ikan seperti lingkungan maupun dari dalam ikan itu sendiri.

Banyak penyakit yang disebabkan oleh bakteri dapat menyebabkan kematian dengan cepat pada ikan kerapu seperti *Vibrio* sp, *Aeromonas* sp, *Pseudomonas* sp, *Streptococcus*, *Pasteurella* sp dan *Mycobacterium* sp (Hatmanti dkk., 2009). Beberapa penelitian budidaya Ikan kerapu akibat serangan penyakit (infeksi bakteri), menyebabkan kematian dari ikan kerapu

bebek 63,1 % dan ikan kerapu macan 33,1 % (Gumay, 2003; 2005).

*Vibrio* sp biasanya menyerang ikan dari fase larva sampai ukuran konsumsi dan umumnya Ikan yang terserang vibriosis akan mengakibatkan kematian yang cukup tinggi pada waktu yang cepat. Infeksi *Vibrio* sp umumnya ditemukan pada ikan air payau atau ikan air laut. *Vibrio* sp merupakan patogen oportunistis yang dapat menyerang ikan-ikan yang mengalami stress atau yang dipelihara pada pemeliharaan dengan kepadatan yang tinggi dan merupakan patogen utama pada budidaya ikan laut atau payau (Irianto, 2005).

Berbagai upaya telah dilakukan untuk menanggulangi penyakit vibriosis diantaranya adalah penggunaan bahan kimia berupa bahan antibiotik, desinfektan dan antiseptik. Akan tetapi penggunaan bahan antibiotik ini tingkat keberhasilannya masih sangat terbatas

(Subasinghe, 1997) disamping itu mempunyai efek samping ditemukannya bahan residu dalam tubuh ikan dan terjadinya resistensi bakteri patogen (Witte, *dkk.*, 1999). Sehingga diperlukan kajian metode lain untuk menghindari penyebaran bakteri *Vibrio* sp atau untuk mengendalikan penyakit. Penggunaan probiotik dalam budidaya ikan memiliki prospek yang baik untuk mengendalikan penyakit (Irianto, 2005).

Mikroflora yang berada di lingkungan perairan dan saluran pencernaan organisme akuatik menunjukkan peran yang menguntungkan dalam menekan serangan penyakit (Gomes-Gil *dkk.*, 2000). Lebih jauh dijelaskan bahwa penggunaan probiotik lebih aman karena tidak terakumulasi dalam tubuh organisme akuatik dan tidak menyebabkan resistensi pada strain-strain patogen dan oportunistik seperti yang terjadi pada penggunaan antibiotik. Probiotik adalah bahan mikroba yang memiliki pengaruh menguntungkan bagi inang melalui bentuk modifikasi keterikatan dengan inang atau komunitas mikroba lingkungan hidupnya (Verschuere *dkk.*, 2000). Lebih jauh Moriaty (1999) menyatakan penambahan bakteri kedalam tangki atau kolam sebagai wadah hewan air berada disebut probiotik. Bakteri asam laktat adalah jenis mikroba yang menguntungkan untuk meningkatkan kelangsungan hidup (Irianto, 2005) dan meningkatkan sistim imun (Natsir, 2010). Kolonisasi bakteri asam laktat dalam usus berfungsi sebagai probiotik, yang bermanfaat bagi kesehatan host, mencegah bakteri yang berbahaya (Buntin *dkk.*, 2007).

Penelitian tentang bakteri asam laktat pada awalnya terbatas pada manusia, ternak dan makanan, tetapi sekarang sudah berkembang pada organisme akuatik. Bakteri asam laktat terutama dari kelompok bifidobakteria dan beberapa spesies *Laktobasili* telah diketahui mempunyai peranan penting dalam menjaga fungsi fisiologis dan kesehatan manusia yaitu berfungsi

menjaga sistem kekebalan tubuh. Selama proses ini, sel kekebalan dan antibodi akan bekerja bersama dalam aliran darah untuk menghentikan sebaran virus dan bakteri patogen (Pato, 2003). Beberapa jenis bakteri asam laktat lain bermanfaat untuk proses fermentasi makanan untuk pengawetan dan memperbaiki tekstur dan cita rasa bahan pangan (Chabela *dkk.*, 2001). Bakteri asam laktat mampu memproduksi asam laktat sebagai produk akhir perombakan karbohidrat, hydrogen peroksida, dan bakteriosin (Afrianto *dkk.*, 2006). Dengan terbentuknya zat antibakteri dan asam maka pertumbuhan bakteri patogen dapat dihambat. Sujaya *dkk* (2008) menjelaskan jenis bakteri asam laktat *Lactobacillus ramnosus* SKG34 dan *Lactobacillus ramnosus* SKG49 yang diisolasi dari susu kuda sumbawa dapat menghambat bakteri patogen jenis *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*.

Penggunaan bakteri asam laktat pada ikan khususnya ikan kerapu tikus sebagai biokontrol dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp belum banyak dikaji. Kajian tersebut perlu dilakukan untuk meningkatkan sintasan ikan kerapu.

## METODE PENELITIAN

### Isolasi Bakteri Asam Laktat

Ikan dibedah untuk diambil saluran pencernaan (usus) lalu dimasukkan dalam larutan fisiologi (85%). Selanjutnya digerus dan dilakukan pengenceran berseri hingga  $10^{-10}$  kemudian ditumbuhkan ke dalam media MRS agar (*de Mann Rogosa, Sharpe*) dengan komposisi: 20 g tryptone, 5 g yeast ekstrak, 2,5 g gelatin, 5 g glukosa, 5 g sucrose, 5 g lactose, 4,0 g NaCl, 1,5 g sodium acetat, 0,5 g ascorbic acid (Askarian *dkk.*, 2008). Sebanyak 10 ml sampel usus dituang ke dalam petri berisi 15 ml media MRS agar. Setelah padat media MRS agar inkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Adanya koloni yang tumbuh diisolasi selanjutnya diseleksi

### Uji *In-vitro* (Uji antagonistik)

Metode yang digunakan adalah kertas cakram (Hatmanti, 2009; sansawat, 2009). Pengujian dilakukan dengan menginokulasikan bakteri *V. alginolyticus* kedalam media agar tryptone soya agar (TSA) padat dalam cawan petri secara merata. Kertas cakram diameter 6 mm dicelupkan ke dalam masing-masing larutan bakteri asam laktat kemudian diletakkan diatas permukaan media nutrisi agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Untuk mengetahui respon antagonis (daya hambat) bakteri asam laktat diukur dengan adanya zona bebas bakteri disekeliling kertas cakram yang kelihatan bening dan diukur luas daerah hambatnya.

### Identifikasi bakteri asam laktat

Bakteri asam laktat dengan zona bening terluas diidentifikasi berpedoman pada buku *Bergey's Determinative Bacteriology* (Holt *dkk.*, 1994) dengan serangkaian uji morfologi dan biokimia seperti pewarnaan Gram, uji Katalase, uji produksi H<sub>2</sub>S, uji Motilitas, uji Fermentasi Karbohidrat, uji Voges-Proskaur, uji ketahanan pH, uji ketahanan NaCl.

### Uji *In-vivo* (Uji Patogenitas)

Isolat bakteri asam laktat yang memberikan daya hambat terluas selanjutnya diuji pengaruhnya pada ikan kerapu tikus (*C. altivelis*) ukuran 10 cm dalam menghambat serangan *V. alginolyticus*. Percobaan pemberian bakteri asam laktat dicampur pada pakan konsentrasi 10<sup>6</sup> Cfu/ml (sebanyak 0,1ml/g pakan) dengan cara disemprotkan ke pakan 30 menit sebelum pakan diberikan (Murni, 2004). Pemberian pakan dua kali sehari pagi dan sore hari selama masa pemeliharaan satu minggu.

Kemudian selama satu minggu ditambahkan bakteri *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 10<sup>5</sup> cfu/ml dalam media pemeliharaan. Pengamatan kelangsungan hidup dilakukan setelah uji

tantang dengan bakteri *V. alginolyticus* mulai hari ke tujuh sampai hari ke empat belas.

### Perhitungan Jumlah Bakteri

Untuk mengetahui jumlah bakteri masing-masing ditumbuhkan pada media MRS agar untuk bakteri asam laktat dan media TSA untuk *V. alginolyticus* kemudian diinkubasi pada suhu 37° selama 24 jam. Biakan murni bakteri asam laktat dan bakteri *V. alginolyticus* ditumbuhkan kembali dalam media nutrient broth (NB). Biakan dari NB juga ditumbuhkan pada media MRS agar dalam cawan petri. Setelah diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam dilakukan perhitungan jumlah sel bakteri pada media MRS agar, dengan menggunakan metode TPC (perhitungan jumlah cawan) untuk mengetahui jumlah bakteri pada NB. Jumlah bakteri per 1 ml sampel NB dapat diperoleh dengan membagi jumlah koloni terhitung percawan dengan volume sampel yang diinokulasikan dibagi dengan pengenceran yang digunakan. dengan menggunakan rumus (Ganjar *dkk.*, 1992).

$$N = T/Q \times 1/V \times 1/S \text{ (cfu/ml)}$$

Dimana:

N : Jumlah bakteri (cfu/ml)

T : Total koloni bakteri pada semua cawan dengan tingkat pengenceran yang sama

S : Tingkat pengenceran

V : Volume larutan bakteri yang diinokulasikan ke cawan (ml)

Q : Jumlah plate/cawan

Untuk mengetahui jumlah bakteri penantang dapat dihitung dengan menggunakan rumus pengenceran (Brescia *dkk.*, 1975

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

Dimana :

N1 = Jumlah bakteri stok (cfu/ml)

N2 = Jumlah bakteri yang diinginkan (cfu/ml)  
 V1 = Volume N1 yang digunakan (ml)  
 V2 = Volume yang akan dipergunakan (ml)

**Tingkat Kelangsungan Hidup**

Tingkat kelangsungan hidup ikan kerapu tikus diamati setelah ujiantang hari ke empat belas dengan menggunakan rumus Effendie (1997)

$$SR = (Nt/N0) \times 100\%$$

SR = Tingkat Kelangsungan hidup (%)  
 Nt = Jumlah ikan yang hidup pada akhir penelitian (ekor)  
 N0 = Jumlah ikan pada awal penelitian (ekor)

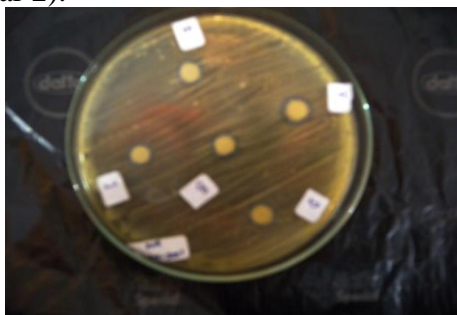
**Aktivitas Lisosim**

Aktivitas lisosim diukur dengan menggunakan agrose plate assay dengan mengikuti petunjuk Ellis (1996).

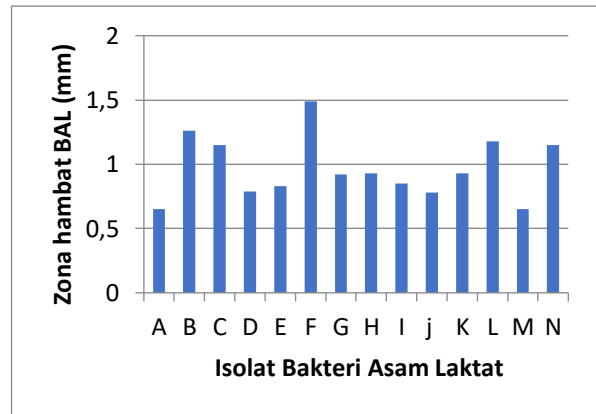
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Uji *In-vitro***

Sebanyak 14 isolat yang dapat tumbuh pada media MRS agar dan setelah anti mikrobanya diuji (Gambar 1) terdapat 3 isolat yang mempunyai zona hambatan paling luas dibandingkan dengan isolat lainnya yaitu isolat B (1,26 mm) isolat F (1,49 mm) dan isolat L (1,15 mm) (Gambar 2).



Gambar 1. Zona hambatan bakteri asam laktat terhadap *V. alginolyticus*



Gambar 2. Luas zona hambatan bakteri asam laktat terhadap *V. alginolyticus*

Efek penghambatan bakteri asam laktat terhadap bakteri *V. alginolyticus* sebagian besar disebabkan oleh akumulasi asam organik yang dihasilkan. Asam akan menyebabkan penurunan pH dibawah kisaran pH pertumbuhan bakteri, dimana asam-asam ini dalam bentuk tidak terdisosiasi akan berdifusi secara pesat ke dalam sel mikroba. Menurut Ostling dan Lindgreen (1990) asam yang tidak terdisosiasi akan terurai menjadi anion dan proton, dimana proton (H<sup>+</sup>) akan masuk kedalam sel, akibatnya fungsi metabolisme akan terganggu seperti terjadinya pengasaman sitoplasma, penghambatan transfer substrat, sintesis makromolekul, yang secara keseluruhan pertumbuhan bakteri akan terhambat. Kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri antara lain juga disebabkan oleh satu atau kombinasi dari beberapa faktor seperti produksi antibiotik, senyawa protein atau kompleks protein spesifik yang disebut bakteriosin, siderophores, lisosim, protease dan atau hydrogen peroksida atau mempengaruhi media dengan menghasilkan asam organik tertentu (Verschuere *dkk.*, 2000, Salminem *dkk.*, 1993).

Hasil karakterisasi (Tabel 1) menunjukkan isolat B dapat dikelompokkan kedalam genus *Streptococcus*, isolat F kedalam genus *Lactobacillus* dan isolat L kedalam genus *Lactacoccus* (Gambar 3)

Tabel 1. Hasil uji biokimia bakteri asam laktat yang diisolasi dari saluran pencernaan ikan kerapu tikus (*C. altivelis*)

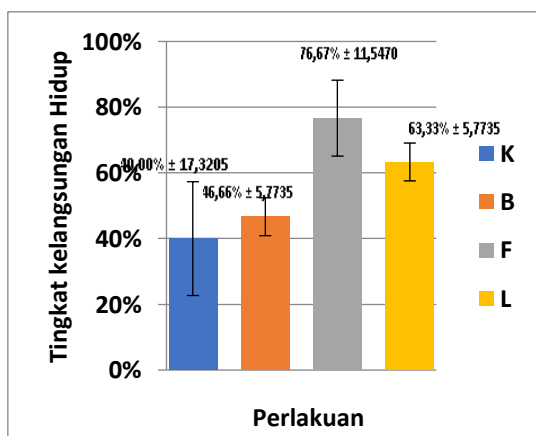


Gambar 3. Gambar bakteri asam laktat isolat F (*Lactobacillus* sp), isolate L (*Lactococcus* sp) dan isolat B (*Streptococcus* sp)

### Uji *In-vivo* (Patogenitas)

#### Tingkat Kelangsungan Hidup

Rara-rata tingkat kelangsungan hidup ikan kerapu tikus yang setelah diberi perlakuan isolat bakteri asam laktat diamati setelah diuji tantang dengan bakteri *V. alginolyticus* selama 1 minggu pemeliharaan (Gambar 4)



Gambar 4. Tingkat Kelangsungan Hidup Ikan Kerapu Tikus (*C. altivelis*) setelah di uji tantang dengan *V. alginolyticus* selama 1 minggu

Karakterisasi	Isolat Sampel					
	F	B	C	L	N	
Pengecatan gram	+	+	+	+	+	
Aktivitas katalase	-	-	-	-	-	
Fermentasi karbohidrat	glukosa	+	+	+	+	
	sukrosa	-	-	-	+	-
	laktosa	+	+	-	+	+
pH pertumbuhan	3	+	+	-	+	-
	4	+	+	+	+	+
	5	++	++	++	++	++
	6	+++	+++	+++	+++	+++
	7	+	+	+	+	+
Motilitas	-	-	-	-	-	
Penggunaan sitrat	+	+	+	+	+	
Produktivitas H2S	Lereng medium	Asam	basa	Basa	Asam	Basa
	Isi medium	asam	asam	Asam	asam	Asam
	H2S	-	-	-	+	-
Metil merah	+	+	+	+	+	
Voges proskauer	-	-	-	-	-	
Nacl	2‰	+	++	++	+	+
	4‰	-	+	+	+	-
	6‰	-	-	-	-	-
Suhu	37°	+++	+++	+++	+++	+++
	30°	++	++	++	++	++
	5°	+	+	+	+	+

Tingginya tingkat kelangsungan hidup ikan kerapu tikus (*C. altivelis*) dengan pemberian bakteri asam laktat (*Lactobacillus* sp) hal ini diduga berkaitan dengan kemampuan bakteri tersebut untuk hidup dalam kondisi asam lambung atau garam empedu dalam usus, mampu menekan populasi mikroba melalui kompetisi dengan memproduksi senyawa-senyawa antimikroba atau melalui kompetisi nutrisi dan tempat perlekatan pada dinding usus sehingga dapat hidup berkolonisasi di dalam usus.

Terjadinya kolonisasi mikrobiota dalam usus salah satunya didukung oleh kondisi lingkungan usus. Mikrobiota akan berfungsi dengan baik sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan mikroba dalam menyediakan nutrisi dan perlingkungannya terhadap patogen (Balcaezar *dkk.*, 2007). Hal ini berkaitan dengan fungsi usus dalam membantu mekanisme dan sistim kekebalan tubuh (Kelly *dkk.*, 2004), mempengaruhi mekanisme mukosa usus, memainkan peranan penting dalam mengekstraksi nutrisi yang akan dikonsumsi (Hooper *dkk.*, 2003).

Semakin awal kolonisasi probiotik di dalam saluran pencernaan maka potensi kerja probiotik dalam menghasilkan produk metabolit akan menjadi lebih baik (Bengmark, 1988). Dengan kemampuan memproduksi senyawa-senyawa antimikroba akan mampu menghambat pertumbuhan patogen dalam intestinum dan pada permukaan tubuh inang atau lingkungan (Irianto, 2003).

**Lisosim**

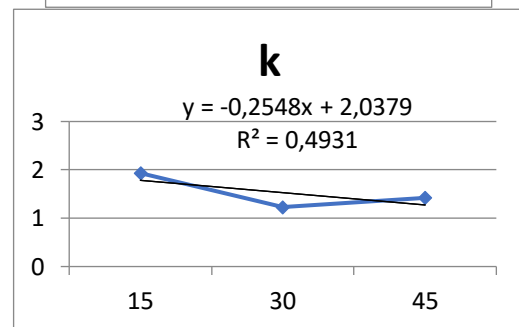
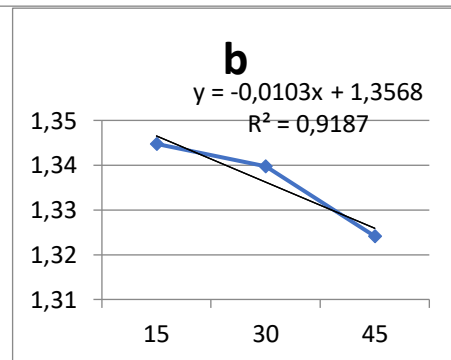
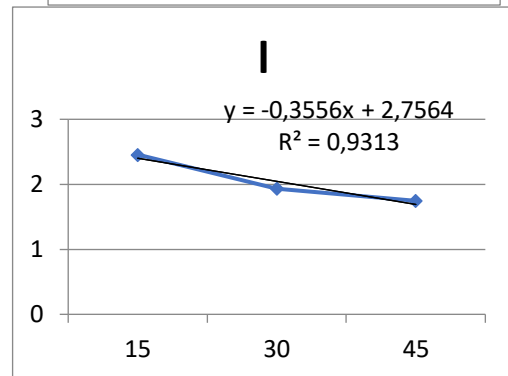
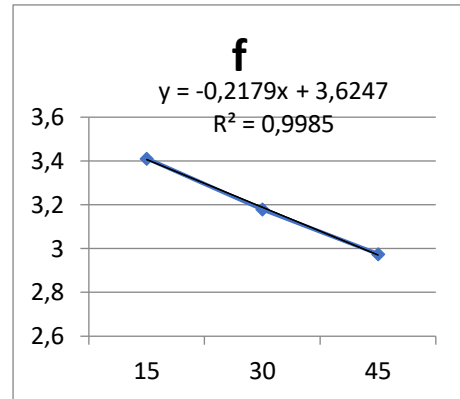
Rata-rata nilai enzyme lisosim (Tabel 2), dimana nilai tertinggi diperoleh pada perlakuan bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp.

Tabel 2. Nilai enzyme lisosim unit/ml darah ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*)

Perlakuan			
<i>Streptococcus</i> sp	<i>Lactobacillus</i> sp	<i>Lactococcus</i> sp	Kontrol
50	1050	800	20

Hasil analisis regresi linear (Gambar 4) menunjukkan pemberian bakteri asam laktat mempengaruhi aktivitas lisosim. Dari perlakuan yang ada bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp memberikan pengaruh yang sangat kuat ( $R^2 = 0,9985$ ) dibandingkan dengan *Lactococcus* sp ( $R^2 = 0,9313$ ), *Streptococcus* sp ( $R^2 = 0,9187$ ) dan Kontrol ( $R^2 = 0,4931$ ).

Ini menunjukkan senyawa-senyawa anti mikroba yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp dapat meningkatkan mekanisme macrofag sehingga dapat meningkatkan mekanisme fagositosis yang pada akhirnya dapat meningkatkan daya pertahanan tubuh ikan melalui peningkatan enzim lisosim. Ellis (1990) mengemukakan lisosim adalah enzim yang mempunyai aktivitas anti bakteri yang bertindak sebagai hidrolase dengan merusak ikatan  $\beta$  (1-4) pada lapisan peptidoglikan pada dinding sel bakteri. Bakteri dihancurkan baik secara langsung ataupun diopsonisasi melalui fagositosis. Pada saat itulah lisosim pada darah ikan akan bersifat anti bakteri yang berarti unsur kekebalan telah diaktifkan.



**KESIMPULAN**

1. Isolat bakteri asam laktat, berdasarkan uji *In-vitro* menunjukkan adanya sifat antagonis terhadap *V. alginolyticus* dengan daya hambat terbesar *Lactobacillus* sp (1,46 mm) diikuti *Streptococcus* (1,26 mm) dan *Lactococcus* sp (1,15 mm),

2. Pada uji *In-vivo* (uji patogenitas) bakteri asam laktat memberikan tingkat kelangsungan hidup setelah diuji tantang dengan *V. alginolyticus* untuk *Lactobacillus* sp (76,67%), *Lactococcus* sp (63,33%), *Streptococcus* sp (46,66) dan Kontrol (40,6%).
3. Pemberian bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp dapat meningkatkan nilai dan aktivitas lisosim

#### DAFTAR PUSTAKA

- Askarian, F., Matinfar, A., Kouha, A., Bahmani, M., Khorsidi, K., Shenavar, A., and Ringo, E. 2008. Diversity of Lactic Acid Bacteria in the gastrointestinal Tracts of Reared Beluga (*Huso huso*) and Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*): A Comparative Study. *Journal of Fisheries and Aquaculture Science* 3(5), 302-311, 2008
- Balcazar, J.L., de Blas, I., Ruiz, Zanzuela, I., Vendrell, D., Girones, O., Muzquiz, J.L. 2007. Encancement of the immune respon and protection induced by probiotic latic acid bacteria against furunculosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal Article, Research Support, Non-4.S. Gov't*.
- Buntin, N., Chanthachum, S., Hongpattarakere, T. 2008. Screening of lactic acid bacteria from gastrointestinal tracts of marine fish for their potential use as probiotics. *Songklanakarinn Journal Science Technology* 30 (Suppl.1), 141-148, April 2008.
- Bengmark, K. 1988. *Ecological Control of the Gastrointestinal Tract*. The Role of the Probiotic Flora. *Gut* 42:2-7
- Effendie, 1997. Biologi Perikanan. *Yayasan Pustaka Nusantara*. 163 hal
- Ellis, A.E. 1990. Lysozyme Assays. *Techniques in Fish Immunology* (eds). SOS Publ, 43 DeNormandie Ave, Fair Haven, NJ, USA *Fish Immunology* Technical Communication, 1:101-103
- Gumay. 2003. Studi Pembesaran Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) Di Perairan Pulau Puhawang, Lampung Selatan. <http://www.google.com> Diakses pada tanggal 2 April 2010
- Gomes-Gil, A., Roque, A., Tumbul, J.F. 2000. The Use and Selection of Probiotik Bacteria for Use in The Culture of Larvae Aquatic Organism. *Aquaculture* 191:258-270.
- Holt, G., Kreig, N.R., Sneath, P.H.A., Stanley, J.T and William, S.T. 1994. *Bergeys Manual Determinative Bacteriology*. Baltimore: William and Winkins Baltimore.
- Hatmanti., Ruyitno, N., Julinasari, D. 2009. Screening Bakteri Penghambat untuk Bakteri Penyebab Penyakit pada Budidaya Ikan Kerapu dari Perairan Banten dan Lampung. *Makara, Sains* Vol. 13, No. 1, April 2009
- Irianto, A. 2005. *Probiotik Aquakultur*. Gadjah Mada University Press. Hal. 125
- Kelly, D., Campbell, J.L., King, T.P., Grant, G., Jansson, E.A., Coutts, A.G., Petersson, S., Conway, S. 2004. Commensal aerobic gut bacteria attenuate inflammation by regulating nuclear-cytoplasma shutting of PPAR and Rel A. *Nat Immune* 5:104-112
- Murni, 2004. Pengaruh penambahan bakteri probiotik *Bacillus sp* dalam pakan buatan terhadap aktivitas enzim pencernaan, efisiensi pakan dan pertumbuhan ikan gurami (*Osplorenameus gourame* Lac.). Tesis Pascasarjana IPB Bogor.
- Moryati, D.J.W. 1999. Disease Control in Shrimp Aquaculture With Probiotic Bacteria In Bell, C.R.M, Brylinsky P, Johnson-Green (ed). *Proceeding of the 8<sup>th</sup> International Symposium on Microbial Ecology*. Halifax Canada.

- Natsir. 2010. Perlu pengembangan Bakteri Asam Laktat. *Metro News. Jum'at, 26 Maret 2010*
- Pato., & Usman. 2003. Potensi Bakteri Asam Laktat diisolasi dari Dadih untuk Menurunkan Resiko Penyakit Kanker. [http://www.unri.ac.id/jurnal/jurnal\\_natur/vol5\(2\)/Usman.pdf](http://www.unri.ac.id/jurnal/jurnal_natur/vol5(2)/Usman.pdf). Tanggal Akses 16 Mei 2010.
- Sujaya, N., Yan, R., Widarini, N.P., Suariani, N.P. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Susu Kuda Sumbawa. *Jurnal Veteriner*. Vol. 9 No.2 :52-59. ISSN:1411-8327
- Subasinghe, R. 1999. Fish health and quarantine, *In: Review of the state of the world aquaculture. FAO fisheries circular no.886*. Food and agriculture organization of the United Nation Rome.
- Salminen, S., Atte von, W., Arthur, O. 2004. *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, Fourth Edition*. CRC Press. ISBN 978-0-8247-5332-0.
- Sansawat, A and Thirabunyanon, M. 2009. Anti-Aeromonas hydrophila activity and characterisation of novel probiotic strains of Bacillus subtilis isolated from the gastrointestinal tract of giant freshwater prawns. *Maejo Internasional of Science and Tecnology*, 3(01), 77-87
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgelos, P., Verstrate, W. 2000. Probiotic Bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular. Biology Review* 64(4):655-671
- Witte, W., Klare, I., Werner, G. 1999. Selective pressure by antibiotic as feed additives. *Infection* 27:35-38, suppl. 2. Session of Shrimp Farming. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana