

TENTANG PENULIS



Prof. Dr. Ir. Yusra, M.Si lahir di Bukittinggi 25 Maret 1969. Setelah menamatkan SMAN 1 Bukittinggi tahun 1987 melanjutkan pendidikan di Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan Universitas Riau Pekanbaru. Pendidikan ini diselesaikan pada tahun 1993, tahun 1995 menjadi dosen pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Bung Hatta Padang Sumatera Barat. Pada tahun 1996 penulis mendapat kesempatan melanjutkan Studi S-2 ke Institut Pertanian Bogor di Program Studi Gizi Masyarakat dan Sumberdaya Keluarga dan memperoleh gelar Master Sain pada tahun 1998. Pada tahun 2010 penulis mendapat kesempatan melanjutkan Studi S-3 ke Universitas Andalas di Program Studi Ilmu Pertanian Konsentrasi Teknologi Industri Pertanian dan memperoleh gelar Doktor pada tahun 2014. Penulis adalah dosen pada matakuliah Dasar-dasar Teknologi Hasil Perikanan, Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan, Teknologi Pasca Panen, Pengendalian Mutu Hasil Perikanan, Biokimia, Mikrobiologi Hasil Perikanan, Kewirausahaan, Enterpreneur dan Bisnis Hasil Perikanan serta Bioteknologi Akuakultur.

ISBN 978-623-5797-34-2



BIOTEKNOLOGI PROBIOTIK

Bakteri Asal Saluran Pencernaan Ikan



LPPM Universitas Bung Hatta

Bioteknologi Probiotik: Bakteri Asal Saluran Pencernaan Ikan



LPPM Universitas Bung Hatta

Sanksi pelanggaran pasal 44: Undang-undang No. 7 Tahun 1987 tentang Perubahan atas Undang-undang No. 6 Tahun 1982 tentang hak cipta.

1. Barang siapa dengan sengaja dan tanpa hak mengumumkan atau memperbanyak suatu ciptaan atau memberi izin untuk itu dipidana dengan pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan/atau denda paling banyak Rp. 100.000.000,- (seratus juta rupiah)
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu ciptaan atau barang hasil pelanggaran hak cipta sebagaimana dimaksud dalam ayat 1 (satu), dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp. 50.000.000,- (lima puluh juta rupiah)

**Bioteknologi Probiotik: Bakteri Asal Saluran
Pencernaan Ikan**

Dr. Ir. Yusra., M.Si

Penerbit

LPPM Universitas Bung Hatta 2023

Judul : Bioteknologi Probiotik: Bakteri Asal Saluran Pencernaan Ikan
Penulis : Dr. Ir. Yusra., M.Si

Sampul : **Dr. Ir. Yusra., M.Si**
Perwajahan: LPPM Universitas Bung Hatta
Diterbitkan oleh LPPM Universitas Bung Hatta Juli 2023

Alamat Penerbit:

Badan Penerbit Universitas Bung Hatta
LPPM Universitas Bung Hatta Gedung Rektorat Lt.III
(LPPM) Universitas Bung Hatta
Jl. Sumatra Ulak Karang Padang, Sumbar, Indonesia
Telp.(0751) 7051678 Ext.323, Fax. (0751) 7055475
e-mail: lppm_bunghatta@yahoo.co.id

Hak Cipta dilindungi Undang-undang
Dilarang mengutip atau memperbanyak sebagian atau seluruhnya
isi buku ini tanpa izin tertulis penerbit
Isi diluar tanggung jawab percetakan

Cetakan Pertama : Juli 2023
Perpustakaan Nasional RI: Katalog Dalam Terbitan (KDT)

Dr. Ir. Yusra., M.Si,

Proses Produksi Oleh : **Dr. Ir. Yusra., M.Si,**
LPPM Universitas Bung Hatta, Juli 2023

9 2 Hlm + XII; 18,2 cm x 25,7 cm

ISBN 978-623-5797-34-2

SAMBUTAN REKTOR UNIVERSITAS BUNG HATTA

Sesuai Renstra Universitas Bung Hatta periode 2022 – 2027; untuk menjadi Excellent Teaching University – yaitu perguruan tinggi yang mengutamakan pendidikan dengan pemanfaatan teknologi informasi serta sumber-sumber digital secara maksimal untuk mendukung proses belajar mengajar - segenap sivitas akademika Universitas Bung Hatta didorong untuk mengembangkan potensi yang dimilikinya, yaitu kemampuan akademis, kemampuan pengajaran, termasuk penyempurnaan kualitas bahan ajar yang akan disampaikan kepada mahasiswa. Perkembangan teknologi yang sangat cepat perlu diantisipasi dengan penyesuaian buku ajar agar mahasiswa tetap memperoleh ilmu pengetahuan terbaru sehingga menjadi seorang lulusan yang siap kerja pada era VUCA ini (*volatility, uncertainty, complexity, ambiguity*).

Universitas Bung Hatta memiliki komitmen tinggi dalam mewujudkan peningkatan pendidikan Nasional, sesuai dengan cita-cita proklamator Republik Indonesia, Dr. Mohammad Hatta. Berbagai kemajuan telah banyak dicapai oleh Universitas Bung Hatta di usia ke 42 ini, namun demikian tantangan besar di depan masih banyak yang harus diselesaikan, melalui pilar-pilar pembenahan sistem di lingkungan internal.

Di kesempatan ini saya ingin menyampaikan penghargaan kepada saudari Dr. Ir. Yusra., M.Si yang telah menulis buku ajar “Bioteknologi Probiotik: Bakteri Asal Saluran Pencernaan Ikan” sebagai bahan referensi perkuliahan maupun penelitian bagi mahasiswa. Semoga buku ini dapat menjadi acuan bagi mahasiswa dalam perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang ilmu “Bioteknologi Perikanan”.

Padang, Maret 2023

Rektor

Prof. Dr. Tafdil Husni, S.E., MBA.

KATA PENGANTAR

Buku Bioteknologi Probiotik: Bakteri Asal Saluran Pencernaan Ikan dimaksudkan sebagai sumber informasi dan panduan praktis bagi mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan serta praktisi dalam mengembangkan probiotik untuk meningkatkan pemanfaatan pakan dan pertumbuhan optimal ikan budidaya. Salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk menekan biaya pakan dan pemanfaatan pakan lebih optimal. Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang mampu membantu memecah atau menguraikan rantai panjang karbohidrat, protein dan lemak yang menyusun pakan yang diberikan kepada ikan budidaya. Pemecahan molekul kompleks menjadi bentuk yang sederhana jelas akan mempermudah pencernaan lanjutan dan diharapkan dapat mengantisipasi pengendapan pakan yang jatuh ke dasar perairan. Probiotik sangat baik digunakan dalam usaha budidaya ikan karena dapat mempercepat pertumbuhan ikan, meningkatkan kesehatan ikan, dan menjaga kualitas air. Namun, masih banyak petani pembudidaya ikan yang belum mengetahui manfaat, teknik pembuatan serta pengaplikasian probiotik untuk mendukung kegiatan budidaya.

Ucapan terima kasih disampaikan kepada pimpinan dan LPPM Universitas Bung Hatta yang telah memfasilitasi terbitnya buku ini. Semoga buku ini menjadi referensi yang berguna bagi pembaca yang tertarik dalam bidang bioteknologi probiotik yang berasal dari saluran pencernaan ikan.

Padang, Juli 2023

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
1. PENDAHULUAN.....	1
2. PROBIOTIK.....	5
Definisi Probiotik.....	5
Probiotik dalam Sistem Akuakultur	6
Prosedur Seleksi dan Pengembangan Probiotik untuk Akuakultur.....	8
Cara Memilih Probiotik yang Tepat	10
Bakteri yang Terkandung dalam Probiotik	11
3. PERANAN PROBIOTIK DALAM AKUAKULTUR.....	17
Probiotik sebagai Pemacu Pertumbuhan Ikan.....	17
Probiotik sebagai Agen Pengurai (Bioremediasi).....	19
Probiotik untuk Meningkatkan Efisiensi Pakan	21
Probiotik untuk Pengendalian Penyakit Ikan.....	24
4. ISOLASI BAKTERI PROBIOTIK DARI SALURAN	
PENCERNAAN IKAN	27
5. IDENTIFIKASI BAKTERI PROBIOTIK DARI SALURAN	
PENCERNAAN IKAN.....	35
6. PEMANFAATAN BAKTERI DARI SALURAN PENCERNAAN	
IKAN SEBAGAI PROBIOTIK.....	47
DAFTAR PUSTAKA.....	55

DAFTAR GLOSARIUM.....83
DAFTAR INDEKS87

DAFTAR GAMBAR

Gambar.1	Peran probiotik dalam sistem akuakultur (Hasan dan Goutam, 2020)	7
Gambar.2	Diagram alir pemilihan probiotik dalam akuakultur (Hasan dan outam, 2020)	9
Gambar.3	Cara penambahan probiotik dalam sistem budidaya ikan (Jahangiri dan Maria, 2018)	10
Gambar.4	Jenis preparasi bakteri probiotik dari berbagai spesies ikan	22
Gambar.5	Bentuk morfologi saluran pencernaan ikan nila (Dokumentasi Yusra dan Efendi, 2016)	27
Gambar.6	Bentuk morfologi koloni bakteri dari usus ikan nila (<i>Oreochromis niloticus</i>) (Dokumentasi Yusra dan Efendi, 2016)	28
Gambar.7	Pewarnaan gram dan bentuk sel bakteri (Dokumentasi Yusra, 2017)	35
Gambar.8	Pewarnaan spora bakteri (Dokumentasi Yusra, 2017).....	36
Gambar.9	Pohon filogenetik berdasarkan sekuen gen 16S rDNA dari isolat bakteri B.3.2 dan S.1 (Yusra dan Efendi, 2017)	44

DAFTAR TABEL

Tabel.1 Jenis bakteri yang terkandung dalam probiotik (Kechagia et al., 2012).....	12
Tabel.2 Jenis preparasi bakteri probiotik dari berbagai spesies ikan.....	18
Tabel.3 Koloni bakteri berdasarkan uji biokimia.....	37
Tabel.4 Hasil analisis homologi sekuen isolat bakteri B3.2 dan S.1 menggunakan BLAST di NCBI.....	44
Tabel.5 Sumber probiotik untuk kegiatan budidaya.....	50
Tabel.6 Jenis preparasi probiotik pada berbagai ikan.....	51
Tabel.7 Manfaat probiotik pada berbagai jenis ikan.....	52

Indonesia memiliki potensi perikanan budidaya yang sangat besar dengan luas 17,91 juta hektar, meliputi 2,8 juta hektar budidaya air tawar (15,8%), 2,96 juta hektar budidaya air payau (16,5%) dan 12,12 juta hektar budidaya laut (67,7%). Potensi pemanfaatan lahan perikanan hanya 2,7%, meliputi pemanfaatan lahan budidaya laut seluas 278.920 ha, pemanfaatan tambak, 605.909 ha dan pemanfaatan budidaya perairan seluas 316.6 ha. Potensi produksi hasil laut di Indonesia mencapai 100 juta ton/tahun dengan nilai produksi sebesar \$251 miliar. Kontribusi industri perikanan budidaya terhadap total nilai ekspor selain migas adalah sebesar 1,13% dan 37,71% dari total nilai ekspor produk hasil laut tahun 2018 (Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan, 2020).

Budidaya perikanan di Indonesia memiliki beberapa teknik budidaya, salah satunya adalah akuakultur. Akuakultur merupakan teknik untuk mendapatkan produksi guna memenuhi kebutuhan manusia. Usaha budidaya ikan membutuhkan teknik manajemen tertentu. Untuk mendapatkan hasil panen yang baik kita perlu memperhatikan tahapan-tahapan dalam budidaya ikan yang dimulai dari persiapan, tahap pemeliharaan, pemanenan, dan teknologi pasca panen. Berbagai teknik untuk menunjang keberhasilan budidaya meliputi menjaga kualitas air, mengendalikan penyakit, dan pemberian pakan optimal. Budidaya ikan dapat dilakukan di kolam, tambak dan karamba jaring apung (KJA).

Di Sumatera Barat terdapat 5 danau yang tersebar yaitu Danau Singkarak, Danau Maninjau, Danau Diatas dan Dibawah serta Danau Talang. Di Kabupaten Agam terdapat sebuah danau yang dikenal dengan danau Maninjau. Danau Maninjau merupakan danau yang terbentuk dari letusan gunung berapi dengan luas sekitar 9.737 hektar, ketinggian 461,5 meter di atas permukaan laut, serta kedalaman maksimum danau mencapai ± 165 m dan luas daerah tangkapan air mencapai 13.408 ha (Zayani, 2020). Budidaya ikan di karamba jaring apung (KJA) dimulai pada tahun 1992 dengan jumlah KJA 12 unit, pada tahun 1997 meningkat menjadi 285 unit, dan sampai

sekarang meningkat menjadi 13.000 unit (Syandri, 2013) Kegiatan budidaya ikan dalam karamba jaring apung akan menghasilkan sisa hasil metabolisme dari ikan dan sisa pakan yang tidak dimanfaatkan. Pakan yang tidak dimanfaatkan dan sisa metabolisme dari ikan budidaya akan masuk ke dalam air, dan akan terurai melalui proses dekomposisi menjadi CO₂, NO₃, dan PO₄. Jika jumlah keramba jaring apung di satu lokasi banyak, maka CO₂, NO₃, PO₄ yang dihasilkan akan semakin banyak. Akibatnya akan mempengaruhi kesuburan perairan. Disamping itu apabila konsentrasi unsur hara dan cahaya cukup tersedia maka akan terjadi pertumbuhan fitoplankton yang sangat pesat yang pada akhirnya akan menyebabkan penurunan kualitas air dan bahkan kematian ikan karena kekurangan oksigen (Sitohang, 2021).

Semenjak beberapa tahun terakhir sering terjadi kematian ikan yang dibudidayakan di Danau Maninjau. Dimulai pada tahun 1997 jumlah ikan yang mati di Danau Maninjau adalah sebanyak 960 ton, pada tahun 2008 dan 2009 terjadi peningkatan dengan jumlah kematian masing-masing sebanyak 15.000 ton setiap tahunnya. Selanjutnya pada tahun 2010 jumlah ikan yang mati sebanyak 500 ton, sebanyak 500 ton pada tahun 2011 dan sebanyak 300 ton pada tahun 2012 dan pada bulan Februari 2013. Kejadian ini terus berlanjut sampai tahun 2022 ini. Tercatat total ikan yang mati sepanjang bulan Desember tahun 2021 mencapai 1.705 ton. Menurut pemberitaan, petani ikan yang melakukan budidaya ikan di KJA Danau Maninjau, Kabupaten Agam ditaksir mengalami kerugian mencapai Rp 35,28 miliar akibat kematian massal ikan sebanyak 1.76 ton pada bulan Januari hingga Desember 2021.

Sampai bulan Februari 2022 petani mengalami kerugian sekitar Rp. 2,6 miliar. Diperkirakan, dari aktivitas budidaya ikan yang dilakukan di KJA akan menghasilkan limbah yang berasal dari pakan ikan sebanyak 292,88 ton/tahun, urea 310,00 ton/tahun dan nitrogen 146,68 ton/tahun (Syandri *et al.*, 2000). Pada saat kejadian, ikan banyak yang mati, diperkirakan kandungan amonia relatif tinggi (0,5 ppm), dan kandungan oksigen terlarut relatif rendah yakni 4,75 ppm (Nasution *et al.*, 2011).

Tindakan mengurangi beban Phospor dan Nitrogen yang berasal dari pakan yang digunakan dalam budidaya merupakan suatu upaya yang dapat digunakan untuk menurunkan potensi eutrikifikasi pada perairan danau. Dari penelitian diketahui bahwa penggunaan probiotik dapat berfungsi untuk meningkatkan tingkat kelangsungan hidup dan respon imun dari udang vannamei dibandingkan dengan udang tanpa pemberian

probiotik. Selanjutnya nutrisi yang seimbang akan menyebabkan pertumbuhan yang baik dan pertumbuhan terjadi ketika ada kelebihan energi bebas setelah energi yang tersedia digunakan untuk pemeliharaan tubuh, basal metabolisme dan aktivitas tubuhnya (Widanarni *et al.*, 2014).

Pemberian pakan dengan penambahan probiotik pada budidaya ikan lele dapat menyebabkan peningkatan berat tubuh ikan saat panen dan juga berguna untuk menekan biaya produksi yang pada akhirnya berdampak pada jumlah keuntungan yang diperoleh Dewi dan Evi (2017). Penggunaan probiotik dapat meningkatkan efisiensi nutrisi pakan karena zat-zat yang terkandung didalamnya akan mudah terserap oleh tubuh ikan disebabkan karena adanya enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri proteolitik (Erzaneti *et al.*, 2018).

Penelitian saat ini banyak dilakukan dengan tujuan untuk mencari dan mengoptimalkan pemanfaatan probiotik dalam industri akuakultur. Hal ini sangat dibutuhkan di masa yang akan datang, karena permintaan terhadap probiotik yang terus meningkat khususnya untuk budidaya ikan. Hal yang selanjutnya harus dilakukan adalah *menscreening* atau menyaring strain probiotik spesifik yang berasal dari inang tempat budidaya ikan dilakukan, dengan tujuan untuk mengelola kualitas dan sifat fungsionalnya secara signifikan. Selain itu, penelitian juga harus fokus mempelajari efek dan mekanisme kerja probiotik terhadap kinerja reproduksi dan perkembangan gonad organisme akuatik dalam sistem pembenihan hingga skala industri. Bakteri probiotik memberikan spektrum efek menguntungkan yang sangat luas untuk inangnya, tetapi masih ada batasan tertentu. Misalnya, senyawa antimikroba atau bakteriosin yang diproduksi oleh kandidat probiotik melawan bakteri patogen yang bersifat tidak spesifik untuk spesies tertentu. Dengan demikian, perbaikan strain diperlukan untuk meningkatkan efisiensi bakteri probiotik. Ada beberapa teknik biologi molekuler seperti teknologi rekombinan, mutagenesis, dan lain-lain yang tersedia untuk memperbaiki susunan genetik dari galur probiotik. Namun, penerapan teknik ini terbatas pada kandidat probiotik yang digunakan untuk akuakultur. Investigasi di masa depan harus dilakukan untuk memecahkan masalah serius ini dan menyiapkan probiotik yang efektif.

Definisi Probiotik

Istilah probiotik pertama kali dikemukakan oleh Lilley dan Stiwell yang mendefinisikan probiotik sebagai senyawa yang dihasilkan oleh mikroba untuk menstimulasi pertumbuhan mikroba lainnya. Definisi probiotik berkembang menjadi organisme atau senyawa yang memiliki kontribusi terhadap keseimbangan mikroflora saluran pencernaan. Definisi lainnya dari probiotik adalah sediaan sel mikroba hidup atau komponen dari sel mikroba yang memiliki pengaruh menguntungkan terhadap kesehatan dan kehidupan inangnya (Verschuere *et al.*, 2000).

Definisi probiotik menurut FAO/WHO, yaitu mikroorganisme hidup yang jika diberikan dalam jumlah memadai akan memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya, atau ketika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup sebagai bagian dari pangan, akan memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya. Lebih lanjut dikatakan lawan dari probiotik adalah antibiotik, dimana probiotik adalah mikroba yang baik dan menguntungkan inangnya (Verschuere *et al.*, 2000).

Probiotik melibatkan beragam bentuk interaksi diantara dua atau lebih mikroorganisme yaitu netralisme, komensalisme, sinergisme atau protokeoperasi, mutualisme (simbiosis), kompetisi, predasi dan parasitisme. Probiotik dapat berupa bakteri gram positif, negatif, khamir, dan fungi. Probiotik biasanya dimasukkan kedalam pangan fermentasi yang berbasis susu. Manfaat kesehatan dari probiotik, yaitu kemampuannya memelihara keseimbangan mikroflora normal usus, menghambat bakteri patogen, dan meningkatkan sistem imun. Probiotik adalah mikroba yang hidup (aktif) dalam makanan yang menguntungkan bagi kesehatan. Probiotik menyebabkan komposisi mikroflora dalam kolon akan berubah. Populasi mikroba yang menguntungkan, terutama *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* akan meningkat dan sebaliknya pertumbuhan bakteri yang merugikan terutama *Eschericia coli* dan *Clostridium* dihambat (Mohapatra *et al.*, 2011).

Pendekatan probiotik adalah mengonsumsi sel bakteri terutama penghasil asam laktat, yakni *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* di dalam makanan atau dalam bentuk suplemen makanan. Cara meningkatkan aktivitas probiotik adalah dengan mengatur kondisi sedemikian rupa sehingga mikroba yang bermanfaat mampu bertahan hidup selama melewati saluran pencernaan. Tempat yang paling sulit dilalui adalah lambung karena derajat keasaman yang tinggi, adanya asam empedu dan kompetisi dengan mikroba dalam kolon. Saat ini makanan yang mengandung bakteri asam laktat atau makanan sumber probiotik adalah hasil fermentasi susu, yaitu yoghurt serta asinan sayur-sayuran dan buah-buahan. Efek menguntungkan dari probiotik adalah berasal dari kemampuan probiotik untuk memberikan aksi perlindungan terhadap bakteri patogen, menyediakan enzim untuk membantu metabolisme nutrisi makanan dan metabolit di usus halus, menstimulasi sistem imun intestinal dan meningkatkan aktivitas peristaltik intestinal (Verschuere *et al.*, 2000).

Probiotik yang umum dipakai pada produk pangan komersial adalah golongan bakteri asam laktat (BAL). BAL adalah bakteri gram positif yang bersifat mikroaerofilik, tidak berspora, dan mampu memfermentasi karbohidrat menjadi asam laktat. Bentuk BAL beragam, ada yang berbentuk batang dan ada yang berbentuk kokkus. Jenis BAL yang sering digunakan pada produk pangan komersial, yaitu *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* (Candra, 2020).

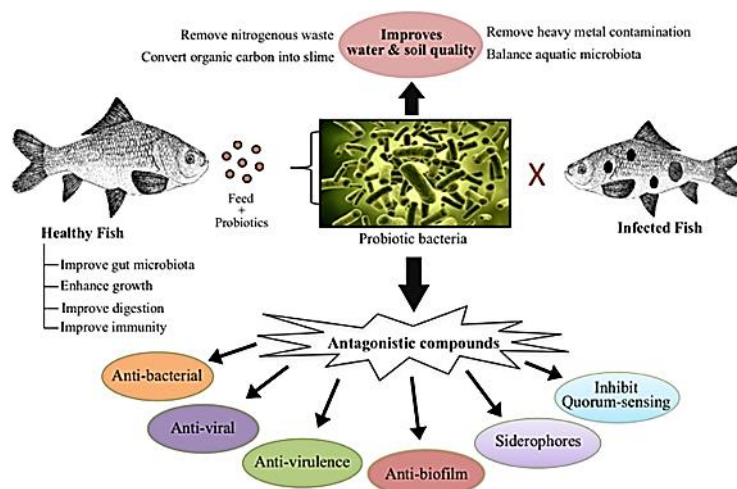
Probiotik dikembangkan sebagai pangan yang mendukung kesehatan manusia. Fungsinya untuk pencegahan dan pengobatan penyakit di saluran pencernaan seperti diare, gastroenteritis, laktosa intoleran, dan kanker kolon. BAL dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria* telah terbukti memiliki efek sebagai probiotik pada manusia. Beberapa bakteri *Lactobacillus* dapat menghambat bakteri patogen, seperti *E. coli*, *Salmonella enteritidis*, dan *Vibrio cholera* (Mohapatra *et al.*, 2011).

Probiotik dalam Sistem Akuakultur

Probiotik untuk lingkungan akuatik didefinisikan sebagai mikroba hidup yang menguntungkan bagi inang dengan memodifikasi hubungan komunitas mikroba yang berasosiasi dengan inang atau lingkungannya, meningkatkan penggunaan pakan atau nilai nutrisi, memacu respons inang terhadap penyakit, atau dengan meningkatkan kualitas

lingkungan perairan (Verschuere *et al.*, 2000). Berdasarkan definisi di atas, probiotik mikroba memiliki peran yang sangat penting pada akuakultur, khususnya menyangkut pengaruhnya terhadap produktivitas, sumber nutrisi hewan akuatik, kualitas air, pengendalian penyakit dan perbaikan lingkungan (Wang *et al.*, 2008)

Probiotik membantu meningkatkan kualitas air karena kemampuannya untuk berpartisipasi dalam pergantian nutrisi organik dalam budidaya (Wang & Wang, 2008). Pengayaan senyawa organik dan limbah nitrogen, termasuk amonium dan amonia (NH₃), menjadi perhatian serius dalam budidaya, misalnya di kolam pemeliharaan ikan lele (Sahu *et al.*, 2008). Peran probiotik dalam sistem akuakultur dapat dijelaskan dalam Gambar I.



Gambar I. Peran probiotik dalam sistem akuakultur (Hasan dan Goutam, 2020).

Penggunaan probiotik menjadi salah satu metode yang efektif dalam pemenuhan efisiensi pakan dan peningkatan daya tahan tubuh. Pembuatan pakan dengan bahan baku bungkil inti sawit menggunakan bakteri *B. lichemiformis* dapat meningkatkan kualitas bahan pakan (Lestari *et al.*, 2019). Peranan bakteri yang ada di dalam probiotik dapat memberikan proses penyerapan makanan lebih efisien sehingga dapat meningkatkan pencernaan pakan yang dikonsumsi dan dapat meningkatkan laju pertumbuhan benih ikan gabus sehingga meningkatkan pertumbuhan pada bobot ikan (Jayadi *et al.*, 2021).

Djauhari *et al.*, (2022) menyatakan probiotik mampu meningkatkan proses penyerapan nutrisi pada pakan karena dibantu oleh bakteri-bakteri probiotik di saluran pencernaan sehingga mampu meningkatkan pertumbuhan dan penambahan probiotik juga menambah jumlah mikroflora pada usus sehingga meningkatkan aktifitas enzim pencernaan. Aktifitas enzim pencernaan diduga berpengaruh terhadap nafsu makan menjadi tinggi dan jumlah konsumsi pakan ikan menjadi optimal yang dapat digunakan menjadi energi untuk ikan.

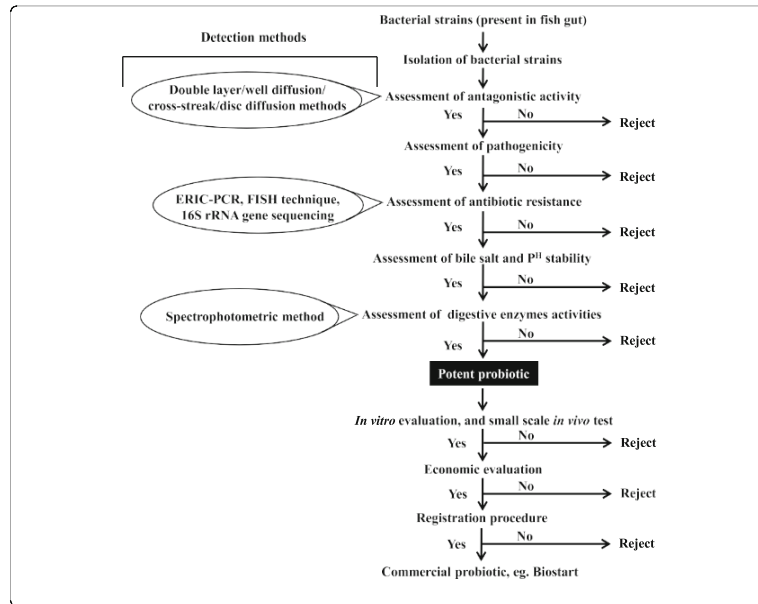
Khotimah *et al.*, (2016) menyatakan bakteri yang terdapat probiotik mampu memberikan pengaruh yang baik terhadap kelangsungan hidup ikan karena bakteri-bakteri yang terdapat dalam probiotik mampu mendegradasikan sisa pakan dan feses ikan sehingga mengurangi kandungan amoniak di media pemeliharaan yang menyebabkan ikan stress dan sakit. Pemberian probiotik pada pakan berpengaruh pada pertumbuhan bobot mutlak ikan gabus (*Channa striata*) sebesar 63 gram, panjang tubuh sebesar 4,77 cm dan FCR 2,08 dan kelangsungan hidup ikan sebesar 96,67 % (Lestari *et al.*, 2022).

Prosedur Seleksi dan Pengembangan Probiotik untuk Akuakultur

Menurut (Gomez-Gil *et al.*, 2000), secara umum prosedur seleksi dan pengembangan probiotik untuk akuakultur terdiri atas 7 tahap, yakni:

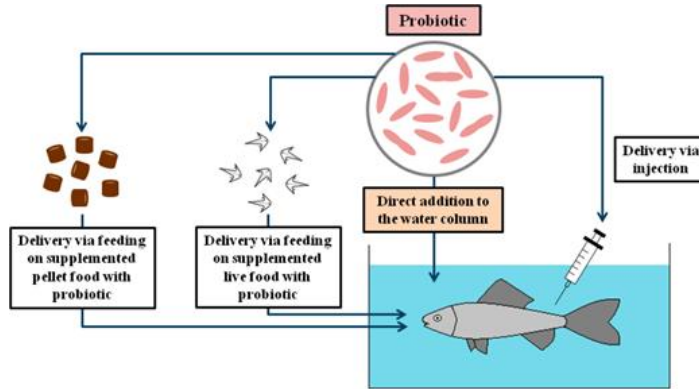
1. Pengumpulan informasi dari literatur serta di lapangan, seperti informasi operasional kolam pembesaran, pendederan atau pembenihan (*hatchery*), manajemen produksi dan pengendalian penyakit,
2. Koleksi atau isolasi kandidat probiotik potensial dari kolam atau ikan (*indigenous/putative probiotics*), yaitu dari ikannya (inang), pakan alami maupun dari lingkungan budidaya, seleksi dan evaluasi kemampuan kandidat probiotik potensial sesuai keinginan yang dituju,
3. Uji patogenitas probiotik potensial,
4. Pengujian skala laboratorium untuk melihat kemampuannya secara *in vivo* terhadap variabel-variabel yang diperlukan, misalnya imunologi, sintasan dan keragaan inang,

5. Pengujian skala lapang untuk menguji kemampuan probiotik dalam skala yang lebih besar dan
6. Analisis ekonomi (*benefit cost analysis*).



Gambar 2. Diagram alir pemilihan probiotik dalam akuakultur (Hasan dan Goutam, 2020).

Probiotik dapat diberikan pada inang atau ditambahkan ke lingkungan akuatik melalui beberapa cara, yaitu pemberian melalui pakan hidup, perendaman, pemberian pada media budidaya dan penambahan pada pakan buatan. Probiotik dapat diklaim tidak efektif karena pengaruh beberapa faktor, antara lain: menurunnya kelangsungan hidup (*viability*) dan kemampuan bakteri probiotik selama masa penyimpanan, kurang sesuainya lingkungan fisika-kimiawi kolam atau tambak bagi bakteri probiotik, serta dosis dan waktu aplikasi yang kurang tepat (Gomez-Gil *et al.*, 2000). Ada beberapa cara pemberian probiotik digunakan dalam sistem akuakultur (Gambar 3)



Gambar 3. Cara penambahan probiotik dalam sistem budidaya ikan (Jahangiri dan Maria, 2018)

Probiotik dapat diberikan sebagai suplemen makanan (melalui makanan hidup seperti *Artemia* dan rotifera atau makanan pelet) atau ditambahkan ke dalam air secara langsung, serta melalui injeksi. Penggunaan metode aplikasi yang sesuai berkontribusi pada kinerja probiotik, dan pengetahuan tentang mode aksi, bersama dengan metode administrasi yang sesuai, berperan penting dalam sistem akuakultur.

Penambahan probiotik langsung ke air tempat pemeliharaan ikan dapat dilakukan sejak hari pertama penetasan telur. Kombinasi pemberian probiotik melalui air dan pakan hidup yang diperkaya (terutama rotifera) sangat direkomendasikan sebagai cara yang tepat untuk mengaplikasikan probiotik dalam larvakultur. Probiotik komersial (*Remus®*, *Avecom*, Ghent, Belgia) yang langsung ditambahkan ke dalam air yang mengandung larva ikan cod (*Gadus morhua* L.), yang diperkaya dengan rotifera dapat meningkatkan regulasi protein yang berguna untuk pertumbuhan dan menurunkan stress ikan (Sveinsdottir *et al.*, 2009). Menurut hasil penelitian, 70% dari populasi mikroba di usus larva ikan cod terdiri dari *L. plantarum* akibat perlakuan dari air kolam pemeliharaan yang diinokulasikan dengan bakteri probiotik ini. Secara keseluruhan, pemberian probiotik melalui air pemeliharaan telah menjadi cara pemberian probiotik yang paling menguntungkan dalam budidaya ikan kod.

Cara Memilih Probiotik yang Tepat

Efektivitas penggunaan bakteri probiotik sangat dipengaruhi oleh jenis bakteri yang digunakan. Hal ini karena kehidupan bakteri probiotik sangat dipengaruhi oleh

kondisi lingkungan sekitarnya tempat mikroba tersebut hidup dimana setiap habitat mempunyai kandungan nutrisi dan fisika-kimia yang berbeda-beda.

Asal dari bakteri probiotik sangat menentukan. Bakteri indigenous dari saluran pencernaan dan dari media budidaya berbeda cara kerjanya (*mode of action*). Pemilihannya berdasarkan serangkaian skrining dan uji potensi sesuai tempat hidupnya yaitu sebagai biokontrol populasi bakteri di saluran cerna ataukah di perairan sebagai agen bioremediasi. Bakteri indigenous akan lebih mampu beradaptasi dengan lingkungan budidaya yang relatif sama dengan lingkungan tempat bakteri tersebut diambil.

Pembudidaya harus menerapkan prosedur standar operasional (SOP) untuk aplikasi probiotik, mulai dari cara memilih sediaan probiotik yang tepat guna, cara menyimpan yang benar dan cara aplikasinya baik melalui air atau pakan. Saat membeli, sebaiknya memperhatikan label formulasi yang berisi jenis bakteri dan komposisinya, dosis, cara penggunaannya, nomor produksi, nomor obat ikan yang diterbitkan oleh Direktorat Jendral Budidaya Kementerian Kelautan dan Perikanan, cara penyimpanan dan masa kadaluarsa (*expire date*).

Masa kadaluarsa tiap produk beragam tergantung jumlah konsentrasi bakteri dan kecukupan kandungan nutrisi di dalam sediaan yang merupakan sumber makanan bagi bakteri probiotik. Cara menyimpan yang benar, kemasan harus terhindar dari panas dan sinar matahari langsung. Cara aplikasi harus disesuaikan dengan target tujuan yang ingin dicapai dan dosisnya.

Bakteri yang Terkandung dalam Probiotik

Pada kenyataannya satu sediaan probiotik berisi dua atau lebih bakteri probiotik dengan cara kerja yang berbeda. Karena memang sulit untuk memisahkan bakteri probiotik yang diaplikasikan dengan tujuan mengontrol lingkungan dan bakteri untuk tujuan perbaikan efisiensi pakan. Bagi ikan, probiotik yang diaplikasikan melalui air untuk tujuan bioremediasi dapat juga tertelan masuk dan berperan sebagai sumber pakan atau berperan di dalam pencernaan pakan walaupun tujuan utamanya misalnya untuk menekan patogen dalam media budidaya atau sebagai bioremediasi. Maka yang terpenting adalah mengetahui fungsi dan cara kerja masing-masing bakteri probiotik dan jika dapat menghasilkan sediaan probiotik yang berisi kombinasi probiotik untuk pakan,

pengendalian penyakit dan perbaikan kualitas lingkungan maka hal tersebut dikategorikan sebagai sediaan probiotik yang terbaik.

Selain mikroorganisme berupa bakteri, kultur probiotik berupa mikroorganisme jamur (fungi) juga telah disetujui dan direkomendasikan oleh *State Food and Drug Administration* (SFDA) antara lain *Candida utilis*, *Ganoderma lucidum*, *Ganoderma sinensis*, *Gnoderma tsugae*, *Hirsutella hepiaii* Chen et Shen, *Kluyveromyces Ictis*, *Monaacus anka*, *Monacus purpureus*, *Paecilomyces hepiaii* Chen et Dai sp.Nov, *Sacchromyces cerevisiae* dan *Saccharomyces carls* bergenis (Anurogo, 2014)

Tabel I. Jenis bakteri yang terkandung dalam probiotik (Kechagia *et al.*, 2012)

Spesies <i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus gasseri</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Spesies <i>Bifidobacterium</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> <i>Bifidobacterium animalis</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium breve</i> <i>Bifidobacterium infantis</i> <i>Bifidobacterium lactis</i> <i>Bifidobacterium longum</i>
Selain bakteri asam laktat	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Streptococcus thermophilus</i>
Bakteri non asam laktat	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus cereus var. toyoi</i>

	<i>Escherchia coli strain nissle</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Propionibacterium freudenreichii</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Saccharomyces boulardii</i>
--	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Lactobacillus acidophilus merupakan bakteri asam laktat yang umumnya digunakan dalam pengawetan minuman probiotik karena kemampuannya dalam menghasilkan senyawa antibakteri. *L. acidophilus* adalah bakteri berbentuk batang, bakteri gram positif, tidak membentuk spora termasuk dalam kelompok bakteri aerobik (Sumarsih, 2003).

Lactobacillus casei berbentuk batang pendek dalam koloni tunggal maupun berantai dengan ukuran panjang 1,5 - 5,0 mm dan lebar 0,6 - 0,7 mm. Bakteri ini bersifat gram positif, katalase negatif, tidak membentuk endospora maupun kapsul, tidak mempunyai flagela dan tumbuh dengan baik pada kondisi anaerob fakultatif. Berdasarkan suhu pertumbuhannya, bakteri ini termasuk bakteri mesofil yang dapat hidup pada suhu 15 - 41°C dan pada pH 3,5 atau lebih, sedangkan kondisi optimum pertumbuhannya adalah pada suhu 37°C dan pH 6,8 (Holt *et al.*, dalam Candraningtyas (2018). *Lactobacillus casei* memiliki peran dalam probiotik manusia, kultur starter asam dalam fermentasi dan kultur khas dalam perkembangan rasa dalam varietas keju (Boro, 2017).

L. plantarum merupakan bakteri gram positif berbentuk basil (0,5-1,5 s/d 1,0-10 µm) serta tidak bergerak (non motil) yang terdapat secara berpasangan atau rantai pendek. Bakteri ini memiliki sifat katalase negatif, aerob atau fakultatif anaerob, mampu mencairkan gelatin, cepat mencerna protein, tidak mereduksi nitrat, dan toleran terhadap asam. Koloni berukuran 2-3 mm, cembung, berwarna putih dan tidak tembus cahaya. Bakteri ini mampu merombak senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan hasil akhir yaitu asam laktat serta dapat memfermentasi gula menjadi asam laktat, tahan pada kadar asam tinggi (pH 4- 5,5), tidak tumbuh pada pH di atas 6 (Nur *et al.*, 2015).

Bakteri *Bacillus subtilis* merupakan salah satu jenis bakteri Gram positif dan berbentuk basil (batang) yang dapat membentuk endospora berbentuk oval di bagian sentral. Koloni bakteri pada media agar berbentuk bulat sedang, tepi tidak teratur, permukaan tidak mengkilat dan berwarna kecoklatan. *Bacillus subtilis* mempunyai panjang 2-3 μm dan lebar 0,7-0,8 μm . *Bacillus subtilis* dapat hidup dikondisi dengan adanya oksigen atau tidak ada oksigen sehingga disebut sebagai mikroorganisme anaerobik fakultatif (Jawetz *et al.*, 2005).

Bifidobacterium bifidum dominan terdapat pada membran mukus disekitar usus besar dan saluran vagina. Spesies ini dimanfaatkan sebagai probiotik yang mampu meningkatkan asimilasi mineral yang penting untuk kesehatan tulang, contohnya besi, kalsium, magnesium, dan seng.

Bifidobacterium breve ditemukan pada saluran intestinal bagian bawah (meliputi sebagian besar usus kecil dan seluruh usus besar) pada bayi serta vagina orang dewasa. Spesies ini telah diteliti dapat menghalangi pertumbuhan *E. coli* sehingga dapat bermanfaat bagi penderita diare akibat infeksi *E. coli* (Tannis, 2008).

Bifidobacterium infantis merupakan probiotik yang penting dan sering ditemukan pada saluran intestinal bagian bawah manusia. Spesies ini mempengaruhi sistem imun karena mampu menstimulasi agen imunomodulasi seperti sitokin dan memiliki efek antibakteri terhadap patogen seperti *Clostridium*, *Shigella*, dan *Salmonella*. *Bifidobacterium lactis* ditemukan dalam jumlah besar di usus besar manusia. Spesies ini bermanfaat bagi penderita eksem, serta dapat meningkatkan imunitas tubuh dengan meningkatkan sel limfosit-T dan sel pembunuh alami (*natural kill cell*, NK). Bakteri ini sangat potensial sebagai probiotik karena tahan asam lambung dan garam empedu sehingga dapat sampai ke saluran pencernaan setelah dikonsumsi (Tannis, 2008).

Lactococcus adalah bakteri gram positif, mikroaerofilik, homofermentatif, tumbuh pada suhu 10°C tetapi tidak tumbuh pada suhu 45°C, menghasilkan L(+) asam laktat dari glukosa. *Lactococcus* memiliki sel berbentuk bulat tampak secara individual, dalam pasangan (Samarzija *et al.*, 2001). Bakteri dari kelompok ini telah dikembangkan menjadi probiotik. Probiotik memiliki berbagai macam mekanisme kerja seperti produksi bakteriosin dan asam lemak rantai pendek, menurunkan pH saluran pencernaan, kompetisi nutrient dan stimulasi fungsi barrier dan immunomodulasi.

Jamur *Saccharomyces* merupakan jenis khamir atau ragi atau yeast yang memiliki kemampuan mengubah glukosa menjadi etanol dan CO₂. *Sacharomyces* merupakan mikroorganisme bersel satu, tidak berklorofil, dan termasuk golongan eumycetes, tumbuh baik pada suhu 30°C dan pH 4,5-5. Pertumbuhan *Saccharomyces* dipengaruhi oleh adanya penambahan nutrisi yaitu unsur C sebagai sumber karbon, unsur N, unsur ammonium dan pepton, unsur mineral dan vitamin (Ahmad, 2005).

Probiotik sebagai Pemacu Pertumbuhan Ikan

Seleksi probiotik sebagai pemacu pertumbuhan didasarkan pada mekanisme aksi (*mode of action*) probiotik akuakultur untuk menghasilkan efek yang menguntungkan bagi inang adalah menyediakan nutrisi esensial dan membantu sistem pencernaan inang melalui kontribusi enzimatik (Verschuere *et al.*, 2000). Kontribusi enzimatik dari bakteri probiotik bagi inang adalah berupa peningkatan aktivitas enzim-enzim pencernaan seperti amilase, protease, lipase, dan produksi enzim pemecah kompleks polisakarida penyusun dinding sel pakan seperti selulase, agarase, karginase, alginat lyase (Suzer, 2008). Aplikasi probiotik *Enterococcus faecum* dengan konsentrasi 1×10^7 cfu/ml pada ikan nila selama 40 hari pemeliharaan. Nila yang diberi probiotik menunjukkan berat badan akhir dan pertambahan berat harian secara nyata lebih baik bila dibandingkan dengan kontrol (Wang *et al.*, 2008).

Beberapa probiotik telah terbukti sebagai pemacu pertumbuhan pada beberapa spesies ikan mas. Probiotik *Bacillus* spp. terbukti mempercepat penambahan bobot ikan mas. Hasil pemberian probiotik *B. circulans* PB7 yang dapat meningkatkan pertumbuhan, aktivitas protease, parameter imunologi dan ketahanan terhadap penyakit serta memperbaiki rasio konversi pakan pada spesies *Catla catla*. Dari hasil riset diperoleh tingkat kelangsungan hidup, pertambahan berat badan, respon imun dan ketahanan penyakit ikan mas yang meningkat setelah diberi makan selama 80 hari dengan probiotik *Bacillus licheniformis* (MTCC 6824) atau *Paenibacillus polymyxa* (MTCC 122) dan *Bacillus coagulans* (MTCC 9872).

Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus cereus* yang diisolasi dari usus ikan nila dan lele bersifat anti-*Aeromonas hydrophila* dan anti-*Streptococcus agalactiae* dapat menjadi kandidat probiotik dan dapat digunakan sebagai immunostimulan pada budidaya ikan nila atau patin (Lusiastuti *et al.*, 2015). Berikut jenis preparasi probiotik yang berasal dari berbagai spesies ikan (Tabel 2).

Tabel 2. Jenis preparasi bakteri probiotik dari berbagai spesies ikan

No.	Jenis Ikan	Jenis Preparasi Probiotik	Hasil yang Diperoleh
1	<i>Litopeneus vannamei</i>	<i>Bacillus</i> dan <i>Lactobacillus</i> dengan <i>spray drying</i> dengan perbandingan biomassa bakteri dan air 3:7	Dapat memberikan kondisi yang dapat melindungi bakteri dari pengaruh lingkungan yang merugikan, seperti panas dan bahan kimia (Andriani, <i>et al.</i> , 2017)
2	<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>Lactobacillus</i> sp., <i>Bacillus</i> sp. dan <i>Saccharomyces</i> sp. cair dengan dosis terbaik 5 mL/kg dari bobot pakan	Mudah diaplikasikan pada pemeliharaan budidaya karena dapat dicampurkan pakan (Andriani, <i>et al.</i> , 2019)
3	<i>Cyprinus carpio</i>	<i>Lactobacillus</i> sp. and <i>Bacillus</i> sp. padat dengan dosis 1.5g/kg dari bobot pakan	Dapat diaplikasikan dengan dicampurkan pada pakan (Rostika, <i>et al.</i> , 2020)
4	<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>Bacillus</i> sp. NP5 cair dengan dosis 1% per kg dari bobot pakan	Mudah diaplikasikan pada pemeliharaan budidaya karena dapat dicampurkan pada pakan lalu dikeringanginkan (Widanarni <i>et al.</i> , 2014)

Probiotik sebagai Agen Pengurai (Bioremediasi)

Jenis mikrobiota yang termasuk di dalam kelompok ini adalah *Nitrosomonas*, *Cellulomonas*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* dan *Nitrobacter*. Dalam aplikasinya di akuakultur, probiotik sebagai agen pengurai dapat digunakan baik secara langsung ditebarkan ke air atau melalui perantaraan pakan hidup (*live feed*). Mikroba pengurai memiliki kemampuan merombak senyawa organik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Hasil perombakannya dapat dimanfaatkan oleh makhluk hidup lainnya. Mikroba nitrifikasi memiliki kemampuan untuk merombak senyawa amoniak menjadi nitrat yang dapat dimanfaatkan. Penggunaan probiotik jenis ini telah lama diterapkan pada tambak pemeliharaan udang yang biasanya menggunakan koloni bakteri *Bacillus* yang menguraikan senyawa nitrit dan bakteri *Thiobacillus* yang mampu menguraikan senyawa H₂S yang bersifat toksik bagi udang.

Baru-baru ini, berbagai jenis probiotik telah terbukti efektif dalam mendegradasi nitrogen amonia. Dengan demikian, zat aditif yang ramah lingkungan ini dapat berkontribusi untuk meningkatkan kualitas air. Misalnya *Bacillus subtilis* telah banyak digunakan sebagai probiotik yang tepat untuk mengendalikan kualitas air. Pemberian *B. subtilis* sebagai bahan tambahan dalam air kolam budidaya ikan *Paralichthys olivaceus* mengakibatkan tingkat amonia berkurang secara signifikan dan juga menurunkan tingkat kematian ikan. Bakteri gram positif, khususnya *Bacillus* spp., telah mampu mengubah zat organik menjadi karbondioksida yang lebih efisien jika dibandingkan dengan bakteri Gram-negatif yang mampu mengubah senyawa organik menjadi biomassa bakteri atau lendir yang terdapat pada permukaan tubuh ikan.

Bakteri probiotik berperan mempercepat degradasi bahan organik dan limbah pada budidaya ikan. Dengan adanya probiotik proses degradasi bahan organik pada dasar kolam akan lancar, sehingga menghasilkan nutrisi yang bermanfaat bagi pertumbuhan plankton. Bahan organik yang mengalami mineralisasi oleh jasad pengurai (probiotik) akan diubah menjadi bahan anorganik seperti nitrat dan pospat. Bahan organik ini dapat digunakan secara langsung oleh fitoplankton dalam air untuk kelangsungan hidupnya. Fitoplankton makanan bagi zooplankton, sehingga jumlahnya melimpah. Hal ini menyebabkan perairan tersebut menjadi subur. Zooplankton merupakan pakan alami bagi sebagian besar larva ikan. Dengan demikian maka ketersediaan pakan alami bagi

ikan akan tetap terjaga. Untuk itu probiotik dapat berfungsi sebagai bioremediasi, biokontrol, imunostimulan serta memacu pertumbuhan.

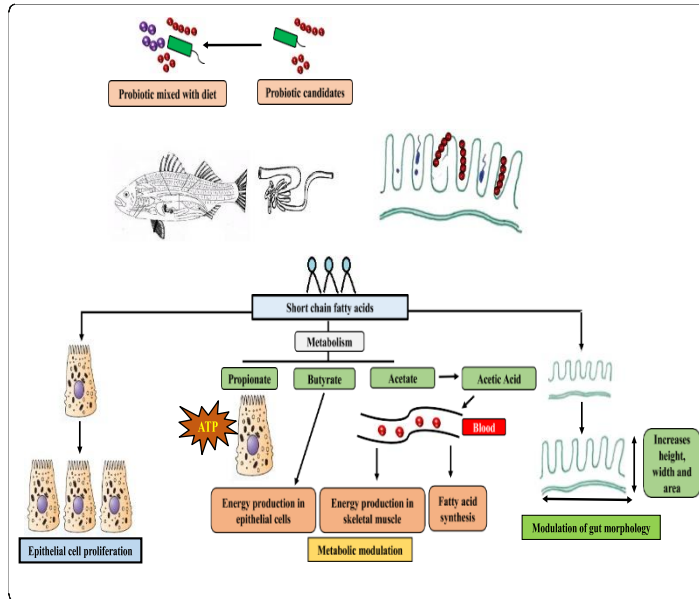
Selain peranan yang telah diuraikan di atas, probiotik juga berperan dalam menfiksasi nitrogen. Bakteri denitrifikasi aerobik dari strain X04I2 bernama *Stenetrophomonas maltophilia* dari tambak udang mampu memproduksi gen nitrit reduktase. Dengan teknik analisis sekuens 16S rDNA, total 27 strain bakteri dari 11 genera teridentifikasi sebagai strain bakteri denitrifikasi mampu mereduksi nitrat dan nitrit, karenanya meningkatkan kualitas air kolam budidaya. Penambahan probiotik untuk budidaya mendapatkan beberapa keuntungan sebagai pengurangan konsentrasi nitrogen dan fosfor; meningkatkan dekomposisi bahan organik, meningkatkan pertumbuhan alga, kelimpahan oksigen terlarut, penurunan ganggang beracun (Cyanobacteria biru-hijau), mengontrol metabolit beracun dan akhirnya dapat meningkatkan produksi udang dan ikan.

Peningkatan kualitas air terutama dihubungkan dengan bakteri *Bacillus* sp. Alasannya bahwa bakteri gram positif adalah pengkonverter yang lebih baik dari bahan organik kembali ke CO₂ dibandingkan bakteri gram negatif. Selama siklus produksi, tingginya tingkat bakteri gram positif dapat meminimalkan penumpukan karbon organik terlarut dan partikulat. Telah dilaporkan bahwa penggunaan *Bacillus* sp. dapat meningkatkan kualitas air, kelangsungan hidup, tingkat pertumbuhan dan meningkatkan status kesehatan juvenil *Penaeus monodon* dan mengurangi vibrio patogen. Selama siklus produksi juvenil *Penaeus monodon*, penambahan bakteri Gram-positif tingkat tinggi seperti *Bacillus* sp. juga dapat meminimalkan akumulasi karbon organik yang bertanggung jawab untuk pembentukan lumpur hitam akhir setelah panen. Peranan bakteri probiotik dapat menurunkan kadar Total amonia nitrogen (TAN) hingga 98% pada pendederan ikan nila. Apabila kualitas air budidaya ikan buruk, akan berpengaruh pada kesehatan ikan. Hal ini disebabkan oleh berbagai faktor diantaranya meningkatnya timbunan bahan organik di dasar kolam yang berasal dari ekskreta ikan, sisa pakan, pupuk organik maupun sisa dari kegiatan budidaya ikan lainnya. Hal ini juga dapat diperparah oleh sistem budidaya perikanan dengan tingkat kepadatan yang tinggi karena dapat memicu meningkatkan stres ikan.

Probiotik untuk Meningkatkan Efisiensi Pakan

Ikan memiliki saluran pencernaan yang relatif sederhana, dimana enzim-enzim yang ada dalam saluran pencernaan tersebut relatif terbatas jumlahnya. Sehingga kemampuan ikan untuk mencerna makananpun terbatas. Pada ikan pada umumnya, protein lebih efektif digunakan sebagai sumber energi dibandingkan dengan karbohidrat, hal ini disebabkan karena terbatasnya jumlah enzim amylase dan enzim lainnya didalam tubuh ikan. Oleh karena itu perlu dilakukan suatu upaya untuk meningkatkan kandungan enzim dalam saluran pencernaan ikan sehingga ikan tidak hanya menggunakan protein sebagai sumber utama energinya tetapi dapat juga berasal dari karbohidrat maupun lemak. Hal ini salah satunya dapat dilakukan dengan penggunaan probiotik (Verschuere *et al.*, 2000).

Probiotik adalah mikroorganisme menguntungkan yang dapat membentuk koloni dan memperbanyak diri dalam usus inang dan memberikan berbagai efek menguntungkan dengan cara memodulasi berbagai sistem biologi dalam tubuh inang. Istilah probiotik berasal dari istilah Yunani yaitu kata “pro” dan “bios” yang berarti “untuk hidup”. Probiotik adalah mikroba tambahan yang memberikan pengaruh menguntungkan bagi inang melalui peningkatan nilai nutrisi pakan serta dapat memperbaiki respon inang terhadap penyakit. Dalam bidang akuakultur, probiotik dimanfaatkan untuk mengontrol penyakit ikan, meningkatkan sistem imun, meningkatkan kualitas air serta penyediaan nutrient dan kontribusi enzimatik. Peranan probiotik pada produksi metabolit oleh flora mikroba usus dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Peranan probiotik pada produksi metabolit oleh flora mikroba usus (Hasan dan Goutam, 2020).

Bakteri *Bacteroides* dan *Clostridium* sp. dilaporkan memiliki kontribusi terhadap nutrisi ikan dengan mensuplai asam lemak dan vitamin. Selain itu beberapa jenis bakteri dilaporkan pula berperan dalam membantu mencerna beberapa jenis kerang dengan cara memproduksi enzim ekstraseluler seperti protease dan lipase. Probiotik mampu mengeluarkan enzim yang berkaitan dengan proses pencernaan bahan yang kompleks. Probiotik dapat menghasilkan beberapa enzim eksogen seperti enzim protease, amylase, lipase dan selulase yang akan membantu enzim endogenous inang untuk menghidrolisis nutrient pakan seperti karbohidrat, protein dan lemak bahkan selulosa dari molekul kompleks menjadi molekul yang lebih sederhana.

Penggunaan probiotik dalam bidang akuakultur tidak hanya untuk mereduksi penggunaan senyawa antimikroba yang berbahaya seperti antibiotik tetapi juga untuk meningkatkan nafsu makan dan performa pertumbuhan ikan budidaya yang ramah lingkungan dan berkesinambungan. Beberapa penelitian mengenai suplementasi probiotik dalam pakan menunjukkan bahwa probiotik tersebut dapat mereduksi biaya produksi suatu usaha budidaya dengan cara meningkatkan pertumbuhan ikan dan efisiensi pemanfaatan pakan oleh ikan. Probiotik yang efektif harus memenuhi beberapa kriteria antara lain adalah: memberikan efek yang menguntungkan pada host, tidak patogenik

dan tidak toksik, mengandung sejumlah besar sel hidup, mampu bertahan dan melakukan kegiatan metabolisme dalam usus, tetap hidup selama dalam penyimpanan dan waktu digunakan, mempunyai sifat sensori yang baik, dan diisolasi dari inang.

Dalam beberapa penelitian mengenai probiotik untuk ikan, umumnya probiotik diisolasi dari saluran pencernaan ikan seperti ikan lele, ikan nila, ikan kerapu macan, ikan bandeng, ikan jelawat, udang vaname, ikan gurame, ikan mas dan mola, dan ikan perisai. Beberapa jenis bakteri dalam saluran pencernaan ikan yang diketahui memiliki potensi sebagai probiotik dan diaplikasikan untuk usaha budidaya ikan air tawar antara lain adalah *Bacillus megaterium*, *Bacillus coagulans*, *Carnobacterium* sp., *Vibrio alginoliticus*, *Planococcus* sp., *Proteus mirabilis*, *Micrococcus* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Bifidobacterium* sp.

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kandidat probiotik yang potensial di bidang akuakultur dan juga diketahui terdapat pada intestine ikan sehat. Jenis BAL yang banyak digunakan adalah dari jenis *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria*. Bakteri *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *B. circulans*, dan *B. clausii*, sering digunakan sebagai probiotik. *Lactobacillus rhamnosus*, *L. delbrückii*, *Carnobacterium maltaromaticum*, *C. divergens*, *C. inhibens*, dan *Enterococcus faecium* juga merupakan jenis bakteri lain yang juga telah digunakan sebagai probiotik sedangkan dari jenis khamir yang telah umum digunakan adalah *Candida sake* dan *Saccharomyces cerevisiae*.

Probiotik diinsersi ke dalam tubuh inang melalui beberapa cara yaitu sebagai pakan hidup, bathing, dimasukkan ke dalam media air dan atau ditambahkan ke dalam pakan ikan. Beberapa penelitian mengenai penggunaan probiotik dalam pakan untuk melihat pengaruhnya terhadap efisiensi pakan dan pertumbuhan ikan air tawar telah dilakukan dan hasilnya menunjukkan pengaruh positif terhadap efisiensi pakan dan pertumbuhan ikan. Salah satunya adalah penggunaan bakteri probiotik untuk melihat pengaruhnya terhadap efisiensi pakan dan pertumbuhan ikan gurame. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan bakteri probiotik *Bacillus* sp. ke dalam pakan meningkatkan aktivitas enzim protease dan amilase saluran pencernaan ikan gurame. Hal ini berpengaruh terhadap peningkatan pencernaan protein dan karbohidrat pakan yang mengakibatkan meningkatnya jumlah protein dan energi nutrisi pakan yang dapat

diserap oleh saluran pencernaan ikan gurame sehingga memberikan pengaruh positif pada laju pertumbuhan ikan gurame.

Pemberian pakan awal (*initial feeding*) di tambak dimungkinkan untuk penambahan probiotik pada media budidaya atau pada media kultur pakan alami untuk memperbaiki *survival rate* larva ikan Turbot (*Scophthalmus maximus*) dengan pemberian setiap hari bakteri asam laktat pada media kultur rotifer yang digunakan sebagai pakan alami dari larva Turbot. Penambahan bakteri asam laktat secara signifikan mereduksi mortalitas larva Turbot yang diuji tantang menggunakan bakteri patogen *Vibrio* pada hari ke 9.

Probiotik untuk Pengendalian Penyakit Ikan

Mikroba yang dapat menyebabkan terjadinya penyakit dapat ditanggulangi melalui penggunaan bakteri probiotik dengan cara kerja: bakteri memproduksi komponen penghambat, bakteri yang berkompetisi nutrisi dan energi, bakteri berkompetisi untuk tempat perlekatan pada saluran cerna, bakteri yang meningkatkan sistem kekebalan tubuh, dan bakteri yang menekan patogen di dalam media budidaya melalui *quorum sensing*. Bakteri yang memproduksi komponen penghambat yang bersifat bakterisida ataupun sebagai bakteriostatik pada bakteri patogen (Verschuere *et al.*, 2000).

Adanya bakteri probiotik ini dapat mengeliminasi bakteri patogen di dalam saluran cerna, pada permukaan air atau dalam media budidaya dan berfungsi sebagai barrier untuk mencegah terjadinya proliferasi dari *patogen opportunistik*. Efek antibakterial ini dapat bersifat mono atau multi dari produksi antibiotik, bakteriosin, siderophore, lisosim, protease, hidrogen peroksida, dan produksi asam organik. Penggunaan bakteri *Vibrio* strain E yang memproduksi siderophore untuk melindungi larva Turbot terhadap infeksi Vibriosis. Mekanisme kolonisasi patogen adalah kompetisi terhadap tempat perlekatannya baik pada saluran cerna maupun pada permukaan jaringan dengan bakteri probiotik yang mempunyai faktor fisikokimiawi spesifik seperti molekul adhesi dan molekul reseptor pada sel epitel saluran cerna atau permukaan jaringan. Bakteri probiotik seperti *Carnobacterium* mempunyai kemampuan adhesi dan

bersaing dengan patogen *Aeromonas hydrophila* dan *V. anguillarum* di dalam saluran cerna atau mukus eksternal.

Kebanyakan probiotik yang diusulkan sebagai agen biokontrol pada akuakultur pada awalnya termasuk dalam kelompok bakteri asam laktat, kemudian berkembang lebih luas ke genus *Vibrio*, genus *Bacillus* seperti *B. acidophilus*, *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *Nitrobacter* sp, *Aerobacter* dan *Saccharomyces cerevisiae* serta genus *Pseudomonas*, yeast dan mikroalga. Aplikasi probiotik melalui air dapat memberikan efek pada kesehatan ikan dengan meningkatnya kondisi kualitas air. Hal tersebut dikarenakan probiotik mampu memodifikasi komposisi bakteri dalam air dan sedimen.

Aplikasi probiotik ke dalam media budidaya dapat memberikan pengaruh yang baik terhadap kesehatan ikan, dikarenakan probiotik memiliki kemampuan mengubah komposisi bakteri yang menguntungkan di dalam media budidaya sehingga akan meningkatkan kelangsungan hidup ikan yang dibudidayakan. Penelitian tentang probiotik melalui media budidaya di Laboratorium Kesehatan Ikan, Instalasi Penelitian dan Pengembangan Pengendalian Penyakit Ikan, BPPBAT, Kementerian Kelautan dan Perikanan telah menghasilkan produk biologi yaitu Probiotik PATO AERO I dan PATO AERO 2. Dengan pemberian probiotik *Bacillus* P4II dengan dosis 10^4 cfu/ml pada media air pemeliharaan ikan lele efektif menekan pertumbuhan *A. hydrophila* dan mencegah penyakit *Motile Aeromonas Septicemia*, dengan meningkatkan respons imun dan kelangsungan hidup serta laju pertumbuhan harian ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*).

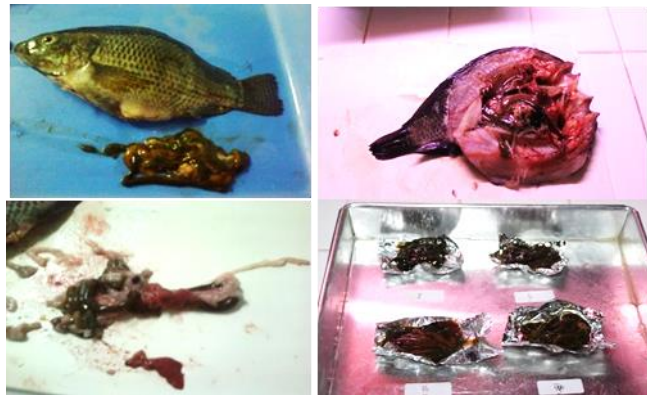
Begitu juga penelitian aplikasi probiotik *B. firmus* pada media budidaya mampu mencegah serangan *A. hydrophila* pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). Penambahan probiotik *B. firmus* dengan dosis 10^6 cfu/ml pada media budidaya dengan pemberian setiap 2 hari sekali selama 2 minggu mampu mencegah dan menanggulangi serangan *A. hydrophila*. Tingkat kelangsungan hidup ikan uji dengan aplikasi probiotik mencapai 100% dan lebih tinggi jika dibandingkan tanpa penambahan probiotik *B. firmus* dengan kelangsungan hidup hanya sebesar 50%. Hal tersebut dikarenakan konsentrasi *A. hydrophila* pada media budidaya penyebab penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) pada ikan mas berada pada kisaran 10^7 - 10^8 cfu/ml, dan apabila ikan berada dalam kondisi stres maka semakin besar kemungkinan terjadinya kematian.

Sedangkan penelitian pemberian probiotik *B. firmus* dengan dosis 10^9 cfu/ml dapat meningkatkan ketahanan tubuh benih lele dumbo dengan kelangsungan hidup tertinggi mencapai 53,33% setelah diuji tantang dengan *A. hydrophila*, serta terjadi peningkatan kadar limfosit sebesar 81% dan aktifitas fagosit sebesar 60% setelah pemberian probiotik. Pemberian probiotik multispecies dengan kombinasi *B. subtilis* ND2 dan *Staphylococcus lentus* LIK melalui media budidaya ikan lele dumbo mampu menekan populasi *A. hydrophila* hingga 40% dengan tingkat kelangsungan hidup sebesar 89,33%.

4

ISOLASI BAKTERI PROBIOTIK DARI SALURAN PENCERNAAN IKAN

Untuk mengetahui jenis bakteri dari saluran pencernaan ikan yang akan dijadikan kandidat probiotik dilakukan isolasi bakteri. Bentuk morfologi tubuh dan saluran pencernaan ikan sampel yang dalam hal ini ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang berasal dari KJA Danau Maninjau dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Bentuk morfologi saluran pencernaan ikan nila (Dokumentasi Yusra dan Efendi, 2016)

Sebelum dilakukan karakterisasi, terlebih dahulu koloni yang terdiri dari campuran beberapa jenis mikroba dipisahkan satu dengan yang lainnya, sehingga diperoleh isolat bakteri. Bakteri yang telah murni ini selanjutnya dikarakterisasi berdasarkan sifat morfologi dan biokimianya.

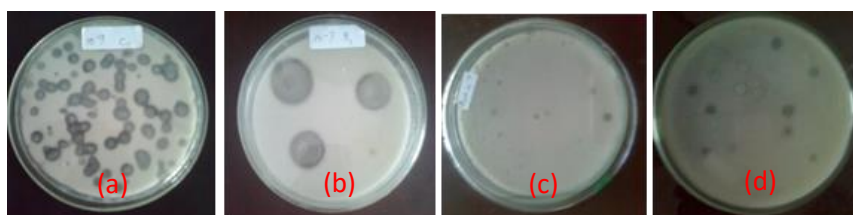
Isolasi bakteri saluran pencernaan ikan nila dalam penelitian ini dilakukan dari sampel usus yang tidak dipisahkan antara bahan pakan, bagian lumen, mukus dan jaringan epithelium, sehingga bakteri yang diperoleh terdiri atas kelompok bakteri yang bersifat sementara (*allochthonus*) dan kelompok bakteri yang menetap (*autochthonus*). Kelompok bakteri sementara adalah bakteri yang terbawa masuk pada saat ikan mengkonsumsi makanan, hidup sementara dalam saluran pencernaan dan akan terbawa keluar pada saat ikan mengeluarkan kotoran. Bakteri yang menetap adalah bakteri yang mampu tumbuh dan membentuk koloni di jaringan mukus dan permukaan epithelium

saluran pencernaan, sehingga tidak terbawa keluar pada saat ikan mengeluarkan kotoran (Ringo *et al.*, 2016).

Selain itu bakteri yang diperoleh dalam penelitian ini sebatas pada bakteri yang dapat ditumbuhkan menggunakan media GTA (*Glukosa Tripton Agar*) + CaCO₃. Hal ini tentu menyebabkan hasil penelitian ini hanya menggambarkan sebagian kecil bakteri proteolitik di saluran pencernaan ikan nila. Bakteri saluran pencernaan ikan dikenal memiliki tingkat kultivasi yang rendah, yaitu kurang dari 0,1% dari total komunitas bakteri di saluran pencernaan (Wang *et al.*, 2018).

Pada tahap awal isolasi, bakteri yang berasal dari sampel ikan ditumbuhkan ke dalam media GTA (*Glukosa Tripton Agar*) + CaCO₃ melalui metode pengenceran bertingkat dari 10⁻¹ sampai 10⁻⁷ untuk mengurangi jumlah populasi mikroba yang terdapat dalam media. Larutan pengencer yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquadest steril. Isolat yang memiliki zona bening diduga merupakan bakteri asam. Berdasarkan penelitian ditemukan sebanyak 55 isolat bakteri yang diduga sebagai penghasil asam berdasarkan zona bening (*halozone*) yang terbentuk disekeliling bakteri menggunakan medium *glukosa tripton agar* (GTA) + CaCO₃.

GTA merupakan medium selektif untuk mendeteksi bakteri yang di dalam metabolismenya menghasilkan asam seperti asam asetat atau asam laktat. Dalam masa pertumbuhannya bakteri asam akan menghasilkan asam disekitar koloni yang apabila bereaksi dengan CaCO₃ yang bersifat tidak larut dalam media, membentuk Ca-laktat/asetat yang larut, sehingga terlihat adanya potensi disekitar koloni yang tumbuh. Bentuk morfologi koloni isolat bakteri hasil isolasi dari usus ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Bentuk morfologi koloni bakteri dari usus ikan nila (*Oreochromis niloticus*) (Dokumentasi Yusra dan Efendi, 2016)

Keberadaan bakteri pada tubuh ikan dipengaruhi oleh jenis makanan dan suhu perairan. Tingginya jumlah bakteri di insang dan usus ikan disebabkan karena aktivitas metabolik tinggi pada ikan dikaitkan dengan jumlah konsumsi yang meningkat pada suhu yang lebih tinggi. Selain itu air kolam dan bakteri sedimen mempengaruhi komposisi bakteri insang dan usus ikan nila.

Saluran pencernaan ikan menjadi tempat hidup komunitas mikroorganisme yang secara normal hidup, berkembang, dan berinteraksi dengan ikan sebagai inangnya. Mikroorganisme dapat ditemukan di semua bagian saluran pencernaan, meliputi rongga mulut, esophagus, lambung, pyloric caeca, usus bagian awal, usus bagian tengah, dan usus bagian akhir (Mukherjee *et al.*, 2020; Talwar *et al.*, 2018). Komunitas mikroorganisme tersebut mempengaruhi berbagai fungsi tubuh ikan, antara lain meliputi perkembangan saluran pencernaan, proses pencernaan, nutrisi, ketahanan terhadap penyakit, dan daya tahan tubuh (Romero *et al.*, 2014). Sebaliknya, kondisi ikan seperti faktor genetik, jenis kelamin, berat, usia, imunitas, dan pergerakan otot saluran pencernaan juga mempengaruhi komunitas mikroorganisme di saluran pencernaan (Wang *et al.*, 2018).

Selain itu, faktor lingkungan seperti kualitas air, pakan, dan penggunaan bahan tertentu seperti prebiotik dan probiotik juga menjadi faktor yang mempengaruhi mikroorganisme saluran pencernaan, inangnya maupun interaksi antara keduanya (Ringo *et al.*, 2016). Hal ini menjadikan komunitas mikroorganisme di saluran pencernaan ikan dapat bervariasi dan unik antar populasi, antar individu ikan, atau bahkan mengalami fluktuasi harian (Su *et al.*, 2020).

Pengaruh jenis pakan dan pemberian probiotik terhadap bakteri saluran pencernaan ikan sudah banyak dilaporkan. Pemberian probiotik telah dilaporkan mempengaruhi komposisi bakteri di saluran pencernaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*), di mana keberadaan bakteri patogen cenderung menurun (Kuebutornye *et al.*, 2020). Namun demikian tidak semua pemberian probiotik mempengaruhi bakteri saluran pencernaan ikan. Sebagai contoh adalah penelitian yang dilakukan oleh Adeoye *et al.* (2016) yang memberi ikan nila dengan probiotik yang dikombinasikan dengan enzim. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa pemberian probiotik tidak mempengaruhi bakteri di saluran pencernaan ikan nila. Bakteri saluran pencernaan ikan dipengaruhi oleh banyak faktor yang dapat dikelompokkan menjadi faktor ikan, faktor

lingkungan, dan faktor mikroorganismenya dan dapat bervariasi antar individu dan dapat berfluktuasi dari hari ke hari (Wang *et al.*, 2018). Pakan dan kondisi air adalah bagian dari faktor lingkungan yang dalam penelitian ini tidak sama antar lokasi pengambilan sampel.

Bakteri menjadi bagian terbesar dari komunitas mikroorganismenya di saluran pencernaan ikan dan paling banyak dipelajari (Talwar *et al.*, 2018). Komunitas bakteri, terutama anggota Phylum Proteobacteria, Firmicutes dan Bacteroidetes, dapat mencapai 90% dari total mikroorganismenya di saluran pencernaan ikan (Romero *et al.*, 2014; Talwar *et al.*, 2018). Komunitas bakteri di saluran pencernaan ikan banyak dipelajari kaitannya dengan aspek daya tahan tubuh, pengendalian patogen, dan nutrisi. Salah satu peran komunitas bakteri ini dalam aspek nutrisi adalah membantu ikan dalam proses pencernaan makanan dengan memproduksi berbagai jenis enzim hidrolase ekstraseluler (Ganguly & Prasad, 2012; Ray *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2018). Bakteri proteolitik menjadi bagian komunitas bakteri yang berperan dalam fungsi tersebut, yaitu membantu proses digesti protein dengan memproduksi enzim protease (Ray *et al.*, 2012). Bakteri proteolitik dapat ditemukan pada ikan karnivora, herbivora, maupun omnivora (Li *et al.*, 2014).

Bakteri proteolitik di saluran pencernaan ikan penting untuk dipelajari dalam rangka meningkatkan produksi perikanan budidaya (Diwan *et al.*, 2021). Bakteri proteolitik telah dilaporkan dari berbagai spesies ikan seperti, *Anabas testudineus* (Mondal *et al.*, 2008), *Catla catla* (Ray *et al.*, 2010), *Channa punctatus* (Banerjee *et al.*, 2017), *Cirrhinus mrigala* (Ray *et al.*, 2010), *Clarias gariepinus* (Kurniasih *et al.*, 2014), *Etroplus suratensis* (Das *et al.*, 2014), *Heteropneustes fossilis* (Banerjee *et al.*, 2017), *Mystus gulio* (Das *et al.*, 2014), *Scatophagus argus* (Das *et al.*, 2014), *Siganus guttatus* (Armada & Simora, 2016), dan *Terapon jarbua* (Das *et al.*, 2014).

Isolasi dan identifikasi jenis bakteri proteolitik yang ditemukan di saluran pencernaan ikan telah banyak dilakukan baik berdasarkan karakteristik biokimiawi maupun karakteristik molekuler. Hasilnya dapat digunakan sebagai salah satu dasar dalam menentukan potensi suatu bakteri proteolitik sebagai kandidat probiotik. Beberapa spesies bakteri proteolitik di saluran pencernaan ikan teridentifikasi sebagai *Citrobacter* sp., *Enterobacter* sp., *Bacillus coagulans*, *Bacillus cereus*, dan *Citrobacter*

freundii, *Bacillus circulans*, *Bacillus pumilus*, *Micrococcus* sp., dan *Pseudomonas* sp. (Ray *et al.*, 2010; Ganguly & Prasad, 2012; Kurniasih *et al.*, 2014; Armada & Simora, 2016).

Contoh bakteri proteolitik yang telah dikembangkan sebagai kandidat probiotik adalah anggota genus *Bacillus* (Tachibana *et al.*, 2021). Hasil studi tersebut juga dapat digunakan sebagai dasar untuk melakukan modulasi komunitas bakteri proteolitik saluran pencernaan ikan untuk meningkatkan produksi komoditas penting akuakultur (Guo *et al.*, 2020; Xia *et al.*, 2020).

Penelitian tentang isolasi bakteri dari saluran pencernaan ikan Nila juga dilakukan oleh Gobinath dan Ramanibai (2012) yang menemukan 29 isolat bakteri asam laktat dari saluran pencernaan ikan Nila. Penelitian tentang isolasi bakteri dari saluran pencernaan ikan juga dilakukan oleh Gangasuresh *et al.*, (2014) pada ikan Nila yang sehat dan yang sakit, Flores *et al.*, (2013); Zapatha (2013), Thillaimaharani *et al.*, (2012); dan Perdana (2011).

Eksplorasi bakteri probiotik dari organ pencernaan ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) untuk mendapatkan kandidat probiotik digunakan sebagai antibakteri untuk menanggulangi penyakit Streptococcosis pada ikan Nila. Dari penelitian isolasi dan identifikasi bakteri probiotik dari saluran pencernaan ikan Nila yang dibudidayakan di kolam-kolam di daerah Wad El Djemaa (Propinsi Relizane, Algeria), didapatkan 10 isolat *Lactobacillus* yang terlihat dari zona hambat yang dihasilkan, dengan menggunakan 4 bakteri patogen yakni *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* sp. dan *Pseudomonas* sp. Isolat-isolat ini memiliki toleransi terhadap asam dan resisten terhadap antibiotik. Strain BLT3 dan BLT31 secara nyata potensial digunakan sebagai probiotik.

Penelitian tentang isolasi dan identifikasi bakteri dari saluran pencernaan ikan Rohu (*Labeo rohita*), ditemukan bakteri *Bacillus* sp. memiliki aktivitas enzim protease, amilase dan lipase yang dapat dijadikan sebagai kandidat probiotik. Dari penelitian potensi daya hambat bakteri asam laktat dari saluran pencernaan ikan bawal Bintang (*Trachinotus blochii*) terhadap bakteri *Vibrio harveyi* secara invitro didapatkan dua isolat bakteri potensial yang dapat dijadikan sebagai kandidat probiotik yakni bakteri *Leuconostoc* sp. dan *Bacillus* sp. Dari ikan Nila yang mati masal di waduk Cirata

ditemukan *Lactobacillus* sp. dan *Bacillus* sp. yang berpotensi untuk digunakan sebagai mikroba probiotik. Bakteri potensial probiotik yang didapatkan dari saluran pencernaan ikan Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*), yakni bakteri *Bacillus coagulans*, *Streptococcus bovis* type I, *Bacillus badius* dan *Micrococcus roseus* (Sitohang, 2018). Berdasarkan penelitian isolasi bakteri probiotik dari saluran pencernaan ikan Guppy *Poeciliareticulata* (*Cyprinodontiformes*: Poeciliidae) ditemukan satu bakteri potensial yakni *Weissella cibaria*.

Penelitian tentang keberadaan bakteri asam laktat pada saluran pencernaan ikan kerapu (*Salmo macrostigma*), yang mendapatkan tujuh genus bakteri potensial yakni *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Vagococcus*, *Lactococcus*, dan *Weissella* yang dapat melawan bakteri patogen dan mampu memicu imun ikan. Selanjutnya dari saluran pencernaan ikan Sidat (*Anguilla bicolor*) juga sudah ditemukan tiga bakteri probiotik yakni dengan kode M6 2 B, M63 B and M72 B yang mampu tumbuh pada kisaran pH 3 - 6.5, dan pada medium dengan konsentrasi garam 0.05% dan 1.0%, memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri pathogen *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Setelah diidentifikasi ketiga bakteri ini termasuk kedalam genus *Lactobacillus*.

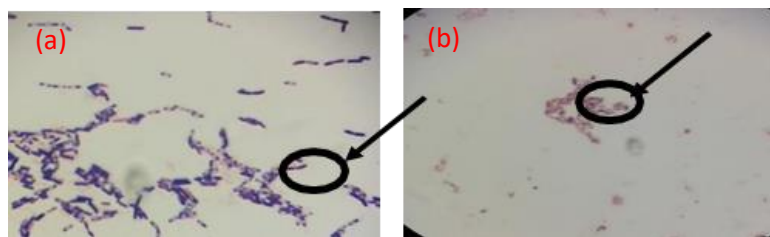
Dari penelitian tentang isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat yang potensial dijadikan probiotik dari usus ikan Repang (*Puntioplites waandersi*) yang terdapat di Sungai Mahakam, Kutai Kartanegara ditemukan lima bakteri potensial yakni *Enterococcus* sp. (R1 dan R2), *Lactobacillus* sp. (R3), dan *Lactococcus* sp. (R4 dan R5). Kelima BAL memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap patogen, beberapa resisten terhadap antibiotik dan memiliki toleransi terhadap garam empedu, salinitas dan suhu, dan memiliki aktivitas amilolitik, proteolitik, dan lipolitik.

Penelitian tentang identifikasi dan aktivitas antimikroba bakteri asam laktat yang berasal dari saluran pencernaan Belut (*Monopterus albus*) yang dibeli dari Pasar Pingit Yogyakarta, ditemukan tiga isolat potensial yakni bakteri *Lactococcus lactis* yang dapat dijadikan sebagai probiotik. Bakteri ini mampu menghambat bakteri patogen *Vibrio harveyi*, *Aeromonas hydrophila*, dan *Staphylococcus aureus*.

Dari penelitian isolasi dan identifikasi molekuler bakteri proteolitik dari saluran pencernaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan di Kabupaten

Banyumas yang diberi pakan yang berbeda ditemukan 15 kelompok bakteri yang mirip dengan *Pseudomonas aeruginosa* (4 isolat), *Plesiomonas shigelloides*, *Escherichia coli*, *Aeromonas veronii*, *Klebsiella variicola*, *Enterobacter ludwigii*, *Enterobacter hormaechei* (2 isolat), *Enterobacter cloacae*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* dan *Bacillus* sp. (Nurhafid *et al.*, 2021). Selanjutnya isolasi bakteri hidrolitik saluran pencernaan ikan nilem (*Osteochilus vittatus*) yang dibudidayakan di Kabupaten Banyumas didapatkan sebanyak tujuh isolat yang teridentifikasi dari tiga Genus berbeda yaitu *Bacillus subtilis*, *Enterobacter mori*, *Enterobacter cloacae*, *Aeromonas hydrophila* dan *Aeromonas veronii* (Listiowati *et al.*, 2022).

Pengamatan morfologi pada isolat bakteri potensial probiotik yang diperoleh dari saluran pencernaan ikan nila dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri potensial probiotik pada saluran pencernaan ikan nila. Setelah dilakukan isolasi dan pemurnian, untuk menentukan jenis bakteri yang terdapat dalam saluran pencernaan ikan dilakukan identifikasi bakteri secara morfologi dan biokimia. Teori identifikasi bakteri dengan teknik konvensional adalah membandingkan bakteri yang sedang diidentifikasi dengan bakteri yang telah teridentifikasi sebelumnya. Bila tidak terdapat bakteri yang ciri-cirinya 100% serupa, maka dilakukan pendekatan terhadap bakteri yang memiliki ciri-ciri yang paling menyerupai. Oleh karena itu teknik identifikasi dengan metode konvensional akan selalu menghasilkan suatu bakteri tertentu yang sudah teridentifikasi sebelumnya dan tidak akan dapat menemukan spesies baru. Hasil pengujian terhadap pewarnaan gram dan bentuk sel bakteri hasil isolasi dari ikan Nila dapat dilihat pada Gambar 7.



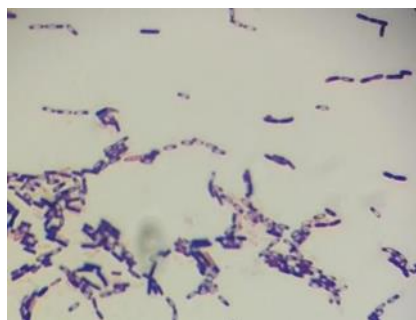
Gambar 7. Pewarnaan gram dan bentuk sel bakteri (Dokumentasi Yusra, 2017)

Identifikasi yang pertama dilakukan untuk mengelompokkan bakteri apakah termasuk gram positif atau gram negatif adalah dengan melakukan uji pewarnaan gram. Hasil uji yang dilakukan memperlihatkan bahwa ke-46 isolat bakteri tergolong kedalam bakteri gram positif dan 9 isolat termasuk gram negatif, hal ini ditandai dengan terbentuknya warna ungu untuk gram positif dan warna merah jambu pada sel bakteri gram negatif akibat penambahan kristal violet. Untuk memastikan kelompok bakteri ini dilakukan pengujian menggunakan pereaksi KOH 3%.

Pada penelitian ini, 46 isolat bakteri memperlihatkan hasil yaitu suspensi yang terbentuk encer dan tidak terbentuk suspensi kental pada saat jarum ose setelah ditambahkan KOH. Saat jarum ose diangkat dari gelas objek tidak terbentuk benang, sehingga dapat diartikan sebagai hasil negatif. Sedangkan untuk bakteri gram negatif menghasilkan suspensi kental pada saat jarum ose diangkat. Berdasarkan bentuk sel terlihat bahwa ke-55 sel bakteri berbentuk batang (*bacil*).

Pengamatan secara mikroskopik terhadap bakteri gram positif ditandai dengan terbentuknya warna ungu pada sel bakteri. Hal tersebut disebabkan karena bakteri ini mempunyai kandungan lipid yang lebih rendah, sehingga dinding sel bakteri akan lebih mudah terdehidrasi akibat perlakuan dengan alkohol. Dinding sel yang terdehidrasi menyebabkan ukuran pori-pori sel menjadi kecil dan daya permeabilitasnya berkurang sehingga zat warna ungu kristal yang merupakan zat warna utama tidak dapat keluar dari sel dan sel akan tetap berwarna ungu. Sedangkan bakteri gram negatif terlihat berwarna merah karena bakteri ini kehilangan pewarna kristal violet pada waktu pembilasan dengan alkohol namun mampu menyerap pewarna tandingan yaitu safranin. Bakteri gram negatif mengandung lipid, lemak atau substansi seperti lemak dalam persentase lebih tinggi daripada yang dikandung bakteri gram positif. Dinding sel bakteri gram negatif juga lebih tipis daripada dinding sel bakteri gram positif.

Setelah uji pewarnaan gram, tahap identifikasi selanjutnya adalah melakukan uji pewarnaan spora menggunakan zat warna *malacite green* untuk menentukan ada atau tidaknya spora dalam bakteri. Hasil pengujian terhadap pewarnaan spora bakteri dapat dilihat pada Gambar 8 .



Gambar 8. Pewarnaan spora bakteri (Dokumentasi Yusra, 2017)

Berdasarkan hasil uji pewarnaan spora terlihat bahwa seluruh isolat bakteri gram positif dari ikan budu yang berbentuk batang terlihat memiliki spora (endospora). Berdasarkan kunci identifikasi disimpulkan bahwa bakteri yang memiliki ciri-ciri gram positif, berbentuk batang dan memiliki spora termasuk kedalam grup I yakni *Bacillus* atau *Clostridium*.

Spora bersifat tahan terhadap kondisi lingkungan ekstrim dan adanya bahan kimia beracun. Spora dibentuk oleh spesies bakteri yang termasuk dalam genera *Bacillus* dan *Clostridium* untuk mengatasi lingkungan yang tidak menguntungkan bagi bakteri. Spora terbentuk dalam sel sehingga seringkali disebut sebagai endospora dan dalam sel bakteri hanya terdapat satu spora. Jika sel semakin tua, maka sel vegetatif akan pecah sehingga endospora akan terlepas dari sel dan membentuk spora bebas. Spora juga lebih tahan terhadap pewarnaan, akan tetapi sulit untuk melepaskan zat warna yang telah terserap kedalamnya, sehingga tidak dapat mengikat zat warna lain yang diberikan berikutnya (*counterstain*). Prinsip pewarnaan ini digunakan untuk membedakan spora dari sel vegetatif.

Zat warna yang paling sering digunakan untuk mewarnai spora adalah *malachite green* yang akan tetap diikat oleh spora bakteri setelah pencucian dengan air dan sebagai *counterstain* digunakan safranin. Dengan cara ini endospora yang masih terdapat di dalam sel vegetatif maupun spora bebas akan berwarna hijau-biru, sedangkan sel vegetatif akan berwarna merah sampai merah muda. Karakteristik koloni bakteri hasil isolasi dari ikan Nila berdasarkan uji biokimia dapat dilihat pada Tabel 5 (Sumber: Yusra dan Efendi, 2017).

Tabel 3. Koloni bakteri berdasarkan uji biokimia

Karakteristik	Kelompok Isolat Bakteri			
	A	B	C	D
Gram	+	+	-	-
Bentuk	bacil	bacil	bacil	Bacil
endospora	+	+	-	-
Motilitas	+	+	+	-
Oksidase	-	-	-	-
Aerob/anaerob	A	A	A	A
Indol	-	-	-	-
Reduksi nitrat	+	+	-	-

TSIA	M/K	K/K	K/K	M/M
Glukosa	-	-	+	+
Laktosa	-	-	+	-
Sukrosa	+	-	+	-
Gas	-	-	+	-
Sitrat	-	-	+	-
Agar darah	+	+	-	-
Pigmentasi	Abu-abu	Abu-abu	Abu-abu	Abu-abu
Hemolysis	-	-	-	-
Urea	-	-	+	-
Mannitol	-	-	+	-
MR	+	+	+	-
VP	+	-	-	+
OF	-	-	+	-
Gelatin	+	+	-	-
KCN	-	-	+	-
Arginin	-	-	+	-
Lisin	-	-	+	-
Malonat broth	-	-	-	-

Isolat Bakteri Kelompok A (genus *Bacillus*).

Bakteri ini mempunyai ciri-ciri morfologi sebagai berikut: gram positif, bentuk sel basil, memiliki endospora, bersifat motil, uji oksidase negatif, bersifat aerob, negatif uji indol, uji reduksi nitrat positif, negatif terhadap uji gula glukosa dan laktosa, tetapi positif terhadap sukrosa, tidak menghasilkan gas, uji sitrat negatif, uji TSIA menghasilkan warna kuning pada bagian bawah dan atas medium, dapat tumbuh pada medium agar darah, uji pigmentasi menghasilkan warna abu-abu, uji hemolysis negatif, uji urea dan manitol negatif, uji MR positif dan positif juga pada uji VP, uji OF negatif dan positif terhadap uji gelatin. Berdasarkan hasil pengujian sifat biokimia bakteri pada kelompok ini dan dihubungkan dengan kunci identifikasi, maka isolat bakteri kelompok ini merupakan jenis bakteri dari genus *Bacillus* dengan spesies *Bacillus subtilis*.

Bacillus subtilis merupakan bakteri gram-positif yang berbentuk batang, dan secara alami sering ditemukan di tanah dan vegetasi. *Bacillus subtilis* tumbuh di berbagai mesophilic suhu berkisar 25oC - 35oC. *Bacillus subtilis* juga telah berevolusi sehingga dapat hidup walaupun di bawah kondisi keras dan lebih cepat mendapatkan perlindungan terhadap lingkungan yang stres seperti kondisi pH rendah (asam), bersifat

alkali, osmosa, atau kondisi oksidatif, dan panas atau etanol Bakteri ini hanya memiliki satu molekul DNA yang berisi seperangkat set kromosom. DNANYA berukuran BP 4214814 (4,2 Mbp) (TIGR CMR). 4,100 kode gen protein. Beberapa keunggulan dari bakteri ini adalah mampu mensekresikan antibiotik dalam jumlah besar ke luar dari sel.

Bacillus subtilis termasuk kedalam genus *Bacillus*. *Bacillus subtilis* mempunyai kemampuan untuk membentuk endospora yang protektif yang memberi kemampuan bakteri tersebut mentolerir keadaan yang ekstrim. Tidak seperti species lain, *Bacillus subtilis* diklasifikasikan sebagai obligat anaerob. *Bacillus subtilis* tidak dianggap sebagai patogen walaupun sering mengkontaminasi makanan tetapi jarang menyebabkan keracunan. Sporangya dapat tahan terhadap panas tinggi yang sering digunakan pada makanan dan berperan terhadap kerusakan pada roti.

Sel dari bakteri *Bacillus subtilis* berbentuk basil, ada yang tebal dan yang tipis. Biasanya bentuk rantai atau terpisah, sebagian motil dan adapula yang non motil. Semua membentuk endospora yang berbentuk bulat dan oval. *Bacillus subtilis* merupakan jenis kelompok bakteri termofilik yang dapat tumbuh pada kisaran suhu 45°C - 55°C dan mempunyai pertumbuhan suhu optimum pada suhu 60°C - 80°C.

Jenis bakteri yang sama juga ditemukan pada penelitian isolasi dan identifikasi bakteri dari kerang laut di perairan pantai Qingdao Bay, Cina. Karakteristik bakteri yang ditemukan pada penelitian ini sama dengan yang ditemukan pada isolasi bakteri dari saluran pencernaan ikan Lele (*Clarias gariepinus*) segar dan asap yang berasal dari daerah Mina, Nigeria. Didapatkan juga jenis bakteri yang sama yakni *Bacillus subtilis* A9 dari pasta udang (terasi).

Bakteri proteolitik yang ditemukan di saluran pencernaan ikan nila dalam penelitian ini sebagian dapat dijadikan bakteri kandidat probiotik, yaitu yang teridentifikasi sebagai anggota Phylum Firmicutes. Bakteri Firmicutes yang ditemukan dalam penelitian ini adalah *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, dan satu isolat *Bacillus* yang tidak dapat diidentifikasi lebih spesifik. *Bacillus* adalah salah satu genus dalam Phylum Firmicutes yang banyak digunakan sebagai probiotik komersial dan juga banyak digunakan untuk memproduksi enzim (Ray *et al.*, 2012). Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis* dilaporkan memiliki pertumbuhan dan memiliki komposisi bakteri saluran pencernaan

yang lebih baik, dan memiliki kelompok bakteri patogen yang lebih rendah (Tachibana *et al.*, 2021).

Isolat Bakteri Kelompok B (genus *Bacillus*).

Bakteri ini mempunyai ciri-ciri morfologi sebagai berikut: gram positif, bentuk sel basil, memiliki endospora, bersifat motil, uji oksidase negatif, bersifat aerob, negatif uji indol, uji reduksi nitrat positif, negatif terhadap uji gula glukosa dan laktosa, negatif terhadap sukrosa, tidak menghasilkan gas, uji sitrat negatif, uji TSIA menghasilkan warna kuning pada bagian bawah dan atas medium, dapat tumbuh pada medium agar darah, uji pimentasi menghasilkan warna abu-abu, uji hemolysis negatif, uji urea dan manitol negatif, uji MR positif, negatif pada uji VP, uji OF negatif dan positif terhadap uji gelatin. Berdasarkan hasil pengujian sifat biokimia bakteri pada kelompok ini dan dihubungkan dengan kunci identifikasi, maka isolat bakteri kelompok ini merupakan jenis bakteri dari genus *Bacillus* dengan spesies *Bacillus thuringiensis*.

Bacillus thuringiensis berbentuk sel batang dengan ukuran lebar 1,0-1,2 mikron dan panjang 3-5 mikron, membentuk delta endospora dan membentuk suatu rantai yang terdiri dari 5-6 sel dan berwarna merah ungu. *Bacillus thuringiensis* menghasilkan kristal protein yang disebut dengan toksin Bt yang beracun bagi ulat dan ngengat. Ciri khas yang terdapat pada *Bacillus thuringiensis* adalah kemampuannya membentuk kristal (tubuh paraspora) bersamaan dengan pembentukan spora, yaitu pada waktu sel mengalami sporulasi. Kristal tersebut merupakan kompleks protein yang mengandung toksin (endotoksin) yang terbentuk di dalam sel 2-3 jam setelah akhir fase eksponensial dan baru keluar dari sel pada waktu sel mengalami autolisis setelah sporulasi sempurna. Sembilan puluh lima persen kristal terdiri dari protein dengan asam amino terbanyak terdiri dari asam glutamat, asam aspartat dan arginin, sedangkan lima persen terdiri dari karbohidrat yaitu mannosa dan glukosa. Jenis bakteri yang sama juga ditemukan pada penelitian isolasi dan identifikasi bakteri dari lobster air laut di Cina. Karakteristik bakteri yang ditemukan pada penelitian isolasi, karakterisasi dan evaluasi dari bakteri *Bacillus thuringiensis* 87 dari susu sapi dan dapat dijadikan sebagai kandidat probiotik.

Isolat Bakteri Kelompok C (genus *Achromobacter*).

Bakteri yang mendekati genus ini mempunyai ciri-ciri morfologi sebagai berikut: anggota Enterobacteriaceae berbentuk batang, dan biasanya 1 - 5 µm panjang. Seperti lainnya bakteri, enterobacteria memiliki sifat Gram-negatif dan anaerob fakultatif, fermentasi gula untuk menghasilkan asam laktat dan berbagai produk akhir lainnya. Sebagian besar juga mengurai nitrat menjadi nitrit, meskipun ada beberapa yang tidak seperti kebanyakan bakteri, *Achromobacter* umumnya kurang sitokrom oksidase C, meskipun ada pengecualian (misalnya *Plesiomonas shigelloides*). Kebanyakan flagela yang digunakan untuk bergerak, tetapi genera sedikit yang non-motile. Mereka tidak membentuk spora. Reaksi katalase bervariasi ada positif namun kadang ada juga yang negatif, tidak menghasilkan gas, reaksi H₂S negatif, uji oksidase negatif, uji indol negatif, uji urea negatif, uji sitrat juga negatif, uji terhadap medium KCN negatif, uji arginin kadang ada yang positif dan uji lisin negatif. Banyak anggota keluarga ini terdapat pada bagian normal dari flora usus ditemukan dalam usus manusia dan hewan lainnya, sementara yang lain ditemukan dalam air atau tanah, atau parasit pada berbagai hewan yang berbeda dan tanaman. Jenis-jenis bakteri yang biasanya terdapat dalam ikan segar biasanya termasuk dalam golongan *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, dan *Clostridium*.

Bakteri *Achromobacter* dan *Enterobacter* merupakan bakteri yang biasa ditemukan dalam tubuh ikan dan udang selain *Acinetobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Eikenella*, *Bacteroides*, *Citrobacter freundii*, *Hafnia alvei*, *Cyt- phaga/Flexibacter*, *Bacillus*, *Listeria*, *Propionibacterium*, *Staphylococcus*, *Moraxella*, dan *Pseudomonas*. uji gula (laktosa, glukosa dan sukrosa) positif, uji terhadap manitol positif, uji VP negatif dan uji OF positif.

Isolat Bakteri Kelompok D (genus *Enterobacter*)

Enterobacter merupakan bakteri gram *negatif* yang berbentuk basil, dengan ukuran 0,6 – 1,0 µm x 1,2 – 3,0 µm, motil, tidak membentuk spora, berkapsul, bersifat aerob, menghasilkan gas dan memiliki flagel. Bakteri ini sering ditemukan bersama *Escherichia coli* hidup bebas di alam seperti di air, tanah dan juga di saluran pencernaan manusia dan hewan. Oksidase negatif, katalase ada yang positif dan kadang negatif,

motil, uji sitrat positif, [indol](#) negatif, uji urease positif, sitrat positif, uji gula (laktosa, glukosa dan sukrosa) positif, uji terhadap manitol positif, uji VP negatif dan uji OF positif.

Sifat pertumbuhan dari *Enterobacter* yaitu dapat tumbuh baik hampir di semua media buatan pada laboratorium mikrobiologi. Bentuk koloni *Enterobacter* (*Aerobacter aerogenes*) besar, berwarna putih-merah, keruh, cembung, bulat dan halus. Selain itu *Aerobacter aerogenes* juga mengurai karbohidrat seperti glukosa dan laktosa menjadi asam dan gas seperti halnya *Escherichia coli*. *Enterobacter aerogenes* dapat hidup sebagai saproba di saluran pencernaan hewan dan manusia. *Enterobacter aerogenes* adalah salah satu jenis bakteri coliform, yang merupakan kelompok bakteri yang digunakan sebagai indikator kondisi sanitasi yang tidak baik terhadap makanan dan minuman.

Bakteri ini juga ditemukan pada penelitian bakteri yang terdapat di dalam saluran pencernaan ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang dibekukan serta isolasi bakteri dari ikan Rohu (*Labeo rohita*) di India. Pada ikan Nila yang sehat dan yang sakit, ditemukan lima strain bakteri asam laktat dari usus ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yakni *Enterococcus faecium*, *Enterobacter durans*, *Leuconostoc* sp., *Streptococcus* sp. I dan *Streptococcus* sp. II.

Selanjutnya juga ditemukan lima strain bakteri asam laktat yang diisolasi dari usus ikan Nila yakni *Enterococcus faecium*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus durans*, *Leuconostoc mesenteroides*. Isolasi bakteri dari usus ikan Nila juga pernah ditemukan bakteri *Virgibacillus pantothenicus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Enterococcus faecalis* dan *Vibrio alginolyticus*. Isolasi bakteri asam laktat dari usus ikan Snakehead fish (*Channa striatus*) ditemukan lima koloni bakteri yang diharapkan dapat dijadikan sebagai kandidat probiotik.

Enterobacter termasuk dalam grup *Enterobacter cloacae* kompleks. Anggota grup ini terdiri atas antara lain *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter ludwigii*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter kobei*, *Enterobacter mori*, dan *Enterobacter nimipressuralis* (Davin-Regli *et al.*, 2021). Genus *Enterobacter* umum ditemukan dalam saluran pencernaan hewan dan manusia, bersifat komensal dan

sebagian dilaporkan sebagai bakteri patogen oportunistik pada tanaman, hewan, maupun manusia (Davin-Regli *et al.*, 2021).

Beberapa hasil penelitian menunjukkan *Enterobacter cloacae* dapat menyebabkan penyakit pada organisme akuatik. Aly *et al.*, (2012) menemukan *Enterobacter cloacae* pada saluran pencernaan ikan Nila yang dapat menyebabkan mortalitas 43% pada ikan tersebut ketika diinfeksi secara injeksi intraperitoneal. *Enterobacter cloacae* juga dilaporkan menyebabkan mortalitas tinggi pada zoea udang galah, *Macrobrachium rosenbergii* (Gao *et al.*, 2019) dan menyebabkan pertumbuhan lambat pada udang galah dewasa (Gao *et al.*, 2021).

Identifikasi Bakteri secara Molekuler

Isolat bakteri yang diidentifikasi adalah dengan kode B.3.2 mewakili bakteri dari kelompok A (*Bacillus* sp.1) yang diduga merupakan *Bacillus subtilis* dan S.I mewakili bakteri dari kelompok B (*Bacillus* sp.2) yang diduga merupakan bakteri *Bacillus thuringiensis*. Untuk analisis sekuen gen I6S rDNA isolat bakteri SS28 dimulai dengan melakukan isolasi DNA melalui empat langkah, yaitu menumbuhkan kultur bakteri semalam, kemudian dilanjutkan dengan dialisis untuk membebaskan isinya dengan SDS dan EDTA. Lapisan DNA yang diperoleh ditambahkan dengan isopropanol untuk memekatkannya. Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan metode GES (Pitcher *et al.*, 1989). DNA bakteri yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan DNA- λ , dilanjutkan dengan amplifikasi Gen I6S rDNA untuk mendapatkan ukuran fragmen dari produk DNA yang diisolasi. Amplifikasi gen I6S rRNA menggunakan teknik PCR (*polymerase chain reaction*) (White *et al.*, 1990 dan O'Donnell, 1993) menggunakan primer (27 F : 5'--AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG--3') untuk arah forward dan primer (1492 R : 5'--GGT TAC CTT GTT ACG ACT T --3') untuk arah reverse.

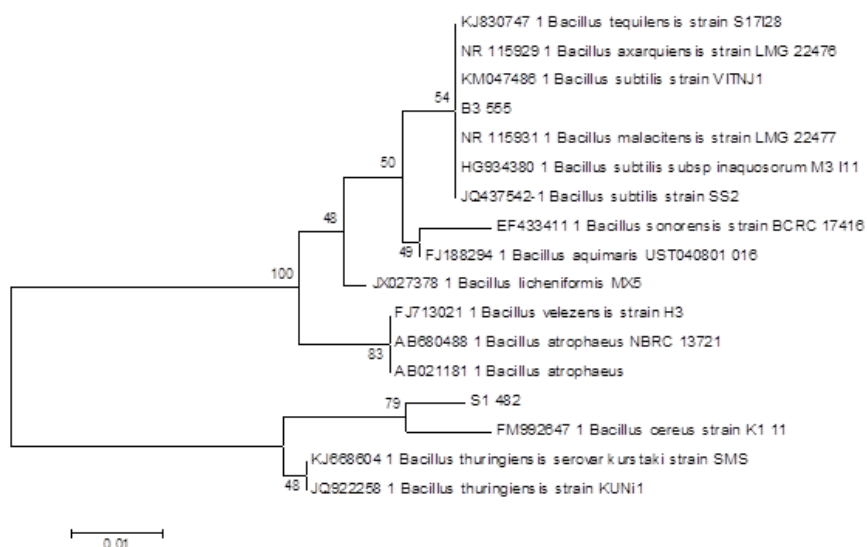
Purifikasi *PCR product* dilakukan dengan *PEG precipitation method* (Hiraishi *et al.*, 1995) dan dilanjutkan dengan siklus sekuensing. Hasil *siklus* sekuensing dipurifikasi kembali dengan *ethanol purification method*. Analisis pembacaan urutan basa nitrogen menggunakan *automated DNA sequencer* (ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer) (*Applied Biosystems*) seperti terlihat pada Tabel 4 di bawah ini.

Tabel 4. Hasil analisis homologi sekuen isolat bakteri B3.2 dan S.I menggunakan BLAST di NCBI

Kode Sampel	Deskripsi	Gene Bank	Homologi
B.3.2	<i>Bacillus subtilis</i> strain VITNJI	KM047486.I	100%
S.I	<i>Bacillus thuringiensis</i> serovar kurstaki strain SMS	CP007607.I	100%

Sumber: Yusra dan Efendi (2017)

Hasil BLAST memperlihatkan bahwa isolat bakteri B3.2 memiliki nilai *query coverage* yang hampir sama yakni sebesar 100% dengan berbagai strain *Bacillus subtilis*. Setelah dianalisis menggunakan *ClustalW* memperlihatkan kesamaan dengan *Bacillus subtilis* strain VITNJI. Sedangkan isolat bakteri SI juga memiliki nilai *query coverage* yang hampir sama yakni sebesar 100% dengan berbagai strain *Bacillus thuringiensis*. Setelah dianalisis menggunakan *ClustalW* memperlihatkan kesamaan dengan *Bacillus thuringiensis* serovar kurstaki strain SMS. Pohon filogenetik isolat bakteri B3.2 dan SI dengan *ClustalW* dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Pohon filogenetik berdasarkan sekuen gen I6S rDNA dari isolat bakteri B.3.2 dan S.I (Yusra dan Efendi, 2017).

Berdasarkan hasil analisis filogenetik diketahui isolat bakteri B3.2 yang diuji berada satu kelompok dengan *Bacillus subtilis* strain VITNJI dengan nilai *bootstrap* 54% dan isolat bakteri S.I yang diuji berada satu kelompok dengan *Bacillus thuringiensis* serovar kurstaki strain SMS nilai *bootstrap* 79%.

Bacillus subtilis termasuk famili Bacillaceae yang merupakan bakteri yang dapat dijadikan sebagai probiotik. Sudah dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian pakan yang mengandung bakteri *Bacillus subtilis* C-3102 pertumbuhan ikan Nila dan tentang *Bacillus subtilis* sebagai bakteri probiotik potensial terhadap pertumbuhan ikan Rainbow trout dan ikan *Ephinephelus coioides*. Dari karakterisasi bakteri protease yang diisolasi dari kotoran ikan (*Neimpterus japonicus*) yang berasal dari pasar ikan di Ukkadam, Coimbatore dan Tamildanu, India ditemukan bakteri *Bacillus subtilis* I4410 yang memiliki aktivitas proteolitik sebesar 23 mm, suhu optimum enzim protease 35°C, dan kisaran pH 4,00-10,00 dengan pH optimum 8,00 serta memiliki potensi untuk dijadikan sebagai kandidat probiotik.

Hasil penelitian ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Nurhafid *et al.*, (2021), yang dari saluran pencernaan ikan Nila yang dibudidayakan di Kabupaten Banyumas ditemukan dua phylum, yaitu Proteobacteria dan Firmicutes. Dua phylum ini telah banyak dilaporkan mendominasi populasi bakteri di saluran pencernaan ikan, selain Fusobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, dan Verrucomicrobia (Wang *et al.*, 2018). Mukherjee *et al.*, (2020) melaporkan bahwa Proteobacteria dan Firmicutes menjadi dua phylum bakteri yang paling mendominasi populasi bakteri di saluran pencernaan tiga spesies ikan yang diamati, *Labeo rohita*, *Catla catla*, dan *Cirrhinus mrigala*.

Hasil penelitian ini juga sesuai dengan hasil penelitian Bereded *et al.*, (2020) yang menunjukkan bahwa bakteri yang berada di dalam saluran pencernaan ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang berasal dari dua danau di Ethiopia sebagian besar termasuk phylum Firmicutes dan Proteobacteria. Sebagian spesies bakteri proteolitik yang teridentifikasi dalam penelitian ini diduga termasuk bakteri yang dapat hidup menetap dalam saluran pencernaan ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Dalam penelitian ini, bakteri proteolitik yang ditemukan pada saluran pencernaan ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) antara lain adalah *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas veronii*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, dan satu isolat *Bacillus* sp. Askarian *et al.* (2012)

melaporkan bahwa genus bakteri *Pseudomonas*, *Aeromonas*, dan *Bacillus* termasuk bakteri yang mampu hidup menetap di saluran pencernaan Salmon Atlantik (*Salmo salar* L.). Penelitian tersebut dilakukan dengan membersihkan sampel usus dari material lumen untuk menghilangkan bakteri yang tinggal sementara di saluran pencernaan (Askarian *et al.*, 2012). Bakteri proteolitik yang ditemukan di saluran pencernaan ikan nila dalam penelitian ini sebagian dapat dijadikan bakteri kandidat probiotik, yaitu yang teridentifikasi sebagai anggota Phylum Firmicutes. Bakteri Firmicutes yang ditemukan dalam penelitian ini adalah *Bacillus subtilis*. *Bacillus* adalah salah satu genus dalam Phylum Firmicutes yang banyak digunakan sebagai probiotik komersial dan juga banyak digunakan untuk memproduksi enzim (Ray *et al.*, 2012). Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis* dilaporkan memiliki pertumbuhan dan memiliki komposisi bakteri saluran pencernaan yang lebih baik, dan memiliki kelompok bakteri patogen yang lebih rendah (Tachibana *et al.*, 2021).

Khan *et al.*, (2014) melakukan penelitian tentang identifikasi dan bakteri potensial dari ikan Zebra (*Danio rerio*) yang antagonis melawan bakteri patogen adalah bakteri *Bacillus subtilis* DKI-SKII yang setelah diidentifikasi secara molekuler merupakan bakteri *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* yang potensial untuk dijadikan sebagai probiotik.

Penelitian tentang pengaruh penambahan bakteri *Bacillus thuringiensis* dilakukan oleh Renesywary *et al.*, (2011) untuk meningkatkan kekebalan ikan . Chovatiya *et al.*, (2014) menemukan bakteri *Bacillus thuringiensis* PPR7 yang setelah diidentifikasi secara molekuler merupakan bakteri *Bacillus thuringiensis* strain KUNiI dari saluran pencernaan ikan *Labeo rohita* yang memiliki adaptasi terhadap range pH yang luas (2,00-10,00) dan memiliki aktifitas enzim protease yang tinggi dan dapat dijadikan sebagai kandidat probiotik.

Berdasarkan studi literatur berikut beberapa bentuk penelitian pemanfaatan probiotik bakteri yang berasal dari saluran pencernaan ikan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rizky *et al.*, (2017), bahwa penambahan probiotik dengan hasil yang terbaik ialah dengan dosis probiotik sebanyak 15 ml. Dengan penggunaan dosis tersebut pada pakan ikan gurame dapat menghasilkan laju pertumbuhan spesifik sebesar 2,43%, efisiensi pakan sebesar 27,45%, pencernaan pakan sebanyak 73%, retensi protein 24,70% serta kelulushidupan ikan sebesar 100%. Hal tersebut juga dilakukan bersamaan dengan pengendalian kualitas air yang baik, sehingga manfaat yang didapat bisa lebih optimal.

Bakteri asam laktat dapat membentuk keseimbangan bakteri di dalam usus serta menekan bakteri-bakteri patogen di dalamnya (Oktaviani *et al.*, 2021). Penambahan bakteri *Bacillus* CgM22 dosis 10 ml/ kg pakan memperlihatkan kedalaman dan panjang crypta dan menghasilkan pertumbuhan bobot mutlak ikan Mas (*Cyprinus carpio*) 8, 8 gr, dengan bobot akhir sebesar 12,8 g (Haetami *et al.*, 2022). Bakteri *Bacillus megaterium* strain MP-5 asal ikan sapu sapu (*Hypostomus Plecostomus*) efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Vibrio alginolyticus* (Kuswari, 2021).

Laporan penelitian menunjukkan bahwa penggunaan probiotik dalam akuakultur dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh, ketahanan ikan terhadap patogen serta meningkatkan pertumbuhan, pakan pencernaan, efisiensi pakan, dan nafsu makan (Ling *et al.*, 2018; Lin *et al.*, 2019; Kong *et al.*, 2020; Kavitha *et al.*, 2018). Selain itu, probiotik dapat menghambat perkembangan bakteri patogen, menjaga keseimbangan flora mikro saluran pencernaan, memperbaiki fungsi pencernaan dan kualitas air (Wang *et al.*, 2018). Aplikasi probiotik pada organisme akuatik juga berpotensi untuk meningkatkan pertumbuhan dan asupan pakan dengan mempengaruhi proses enzim pencernaan seperti amilase, protease dan alginat lyases (Chowdhury & Roy 2020). Probiotik secara efektif berpartisipasi dalam proses pencernaan dengan memproduksi enzim ekstraseluler seperti protease, lipase dan carbohydrases. Dalam penelitian

Manoppo *et al.*, (2019), ditemukan probiotik *Lactobacillus* sp. dari usus ikan mas yang berpotensi untuk mendorong pertumbuhan kinerja dan efisiensi pakan dari spesies yang sama.

Pemberian probiotik secara oral yang berasal dari usus ikan mas menunjukkan potensi untuk meningkatkan kelangsungan hidup spesies yang sama terhadap tantangan *A. hydrophila*. Tingkat kelangsungan hidup terbaik dicapai pada ikan yang diberi makan pelet yang ditambah dengan probiotik pada konsentrasi 1×10^7 – 1×10^8 cfu/mL (Manoppo *et al.*, 2020).

Mortalitas udang yang diberi *Lactobacillus* sp. adalah 12%, sementara udang yang tidak diberi perlakuan mortalitasnya 100% (Toledo *et al.*, 2019). Laporan lain oleh Wang *et al.*, (2019) menunjukkan bahwa probiotik *L. pentosus*, *L. fermentum*, *Bacillus subtilis* dan *Saccharomyces cerevisiae* dalam bentuk campuran yang diberikan pada udang putih (*Litopenaeus vannamei*) dengan konsentrasi 10^7 - 10^9 cfu/kg pakan selama 56 hari secara signifikan meningkatkan status kesehatan udang yang ditunjukkan dengan peningkatan kelangsungan hidup setelah ditantang dengan bakteri *Vibrio alginolyticus*. Xie *et al.*, (2019) juga melaporkan bahwa pemberian campuran probiotik *Lactobacillus*, *B. subtilis* dan *B. licheniformis* mampu meningkatkan respon imun nonspesifik dan pertumbuhan udang putih.

Pemberian probiotik pada ikan dapat meningkatkan respon imun, ketahanan terhadap patogen, kelangsungan hidup serta pertumbuhan, pencernaan, efisiensi pakan, dan nafsu makan (Cavalcante *et al.*, 2020; Kong *et al.*, 2020; Mulyasari *et al.*, 2016). Pada penelitian Undi *et al.*, (2020), benih ikan mas diberi pakan pellet yang disuplementasi dengan probiotik *Lactobacillus* sp. pada 1×10^7 - 1×10^8 cfu/mL selama enam minggu menunjukkan peningkatan yang signifikan dalam total leukosit dan aktivitas fagositik. Pangalila *et al.*, (2020) juga melaporkan bahwa penambahan probiotik *Lactobacillus* sp. yang berasal dari usus ikan lele pada konsentrasi 1×10^8 cfu/mL secara nyata meningkatkan total leukosit dan aktivitas fagositik benih ikan mas setelah diberikan selama empat minggu. Mohammadian *et al.*, (2019) menemukan bahwa *C. carpio* (65 ± 5 g) yang diberi perlakuan dengan kombinasi 5×10^7 cfu *L. casei*, 1% β -glukan dan mannan oligosakarida dan ditantang dengan *A. hydrophila* memiliki mortalitas yang lebih rendah dibandingkan kontrol. Lebih lanjut, Kong *et al.*, (2020)

melaporkan bahwa pemberian probiotik *L. lactis* yang diisolasi dari usus ikan Gabus (*Channa argus*) secara tunggal atau kombinasi dengan *Enterococcus faecalis* selama 56 hari meningkatkan sintasan ikan secara nyata dibandingkan kontrol dengan sintasan 63,3%. Hal ini diakibatkan oleh peningkatan imunitas humoral yang ditunjukkan dengan peningkatan kadar IgM, ACP, AKP, LZM, serta aktivitas C3 dan C4 dalam serum, yang pada gilirannya efektif meningkatkan imunitas humoral ikan.

Nguyen *et al.*, (2017) mengkonfirmasi probiotik *L. lactis* yang diisolasi dari ikan air laut dan diberikan pada ikan yang memiliki ukuran rata-rata 80,84 g selama 8 minggu dapat meningkatkan respon imun nonspesifik ikan *Paralichthys olivaceus*. Selanjutnya, Jang *et al.*, (2019) juga melaporkan bahwa *P. olivaceus* yang diberi probiotik *Lactobacillus plantarum* selama 8 minggu memiliki kekebalan yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol; tingkat kematian ikan setelah ditantang dengan *Streptococcus iniae* adalah 12,5%, sedangkan ikan kontrol mencapai 100%.

Ullah *et al.*, (2018) juga memiliki melaporkan bahwa probiotik komersial yang diberikan pada ikan selama 90 hari meningkatkan nonspesifik respon imun ikan Mori (*Cirrhinus mrigala*) yang ditandai dengan peningkatan total leukosit, aktivitas lisozim, protein plasma total dan imunoglobulin dibandingkan dengan ikan kontrol.

Saat ini pemberian probiotik pada pakan ikan biasanya dilakukan dengan dicampurkan pada pakan dan langsung dicampur pada air. Menurut Effendi (2004), keuntungan menggunakan metode pengeringan semprot adalah produk mengering tanpa menyentuh permukaan logam panas, suhu produk akhir rendah meskipun suhu pengeringan relatif tinggi dan waktu yang dibutuhkan lebih singkat. Sedangkan menurut Hariani dan Purnomo (2017) keuntungan dari metode dicampur dengan air adalah lebih mudah diaplikasikan karena tidak perlu dilakukan persiapan yang sulit.

Terdapat berbagai jenis preparasi probiotik pada pakan. beberapa penelitian tentang sumber probiotik untuk kegiatan budidaya dapat dilihat pada Tabel I. Preparasi probiotik dapat berupa cair, padat, dan bubuk. Pada ketiga jenis preparasi ini menunjukkan efek yang baik pada pertumbuhan ikan maupun pada ketahanan tubuhnya sebagaimana tertera pada Tabel 5.

Tabel 5. Sumber probiotik untuk kegiatan budidaya

No.	Bakteri	Sumber Probiotik	Peran dari Probiotik	Referensi
1	<i>Bacillus</i> sp.	Hasil isolasi dari usus ikan mas	Probiotik pada ikan omnivora	Haetami <i>et al.</i> , 2019
2	<i>Micrococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> dan <i>Bacillus</i> sp.	Hasil isolasi dari usus lele	Probiotik pada ikan kembung	Yulvizar <i>et al.</i> , 2013
3	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Bacillus mycoides</i>	Mikroorganism dalam cairan rumen sapi	Ikan Nila	Yuli <i>et al.</i> , 2012
4	<i>Staphylococcus epidermidis</i> dan <i>Bacillus cereus</i>	Mikroorganism dari lambung dan usus ikan lele	Probiotik pada ikan budidaya	Kurniasih <i>et al.</i> , 2017
5	<i>Bacillus subtilis</i>	Mikroorganism dari lambung dan usus ikan nila	Kandidat probiotik	Yusra dan Efendi, 2017
6	<i>Lactobacillus</i> sp.	Organ pencernaan ikan mas	Probiotik pada ikan budidaya	Bella, 2018
7	Bakteri Asam Laktat	Isolasi dari saluran pencernaan ikan nila	Probiotik pada ikan budidaya	Bukhori <i>et al.</i> , 2020
8	<i>Lactobacillus</i> sp.	Isolasi dari usus ikan mas	Probiotik pada budidaya	Novitarizky <i>et al.</i> , 2018
9	<i>Lactobacillus</i> sp.	Isolasi dari usus ikan mas	Probiotik pada ikan mas	Mudeng <i>et al.</i> , 2020
10	<i>Lactobacillus</i> sp.	Isolasi usus ikan mas	Probiotik pada benih ikan mas	Pangalila <i>et al.</i> , 2020

Tabel 6. Jenis preparasi probiotik pada berbagai ikan

No.	Jenis Ikan	Jenis Preparasi Probiotik	Hasil yang Diperoleh	Referensi
1	<i>Litopaneus vannamei</i>	<i>Bacillus</i> dan <i>Lactobacillus</i> dengan <i>spray drying</i> dengan perbandingan biomassa bakteri dan air 3:7	Dapat memberikan kondisi yang dapat melindungi bakteri dari pengaruh lingkungan yang merugikan, seperti panas dan bahan kimia.	Andriani, <i>et al.</i> , 2017
2	<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>Lactobacillus</i> sp., <i>Bacillus</i> sp. dan <i>Saccharomyces</i> sp. cair dengan dosis terbaik 5 mL/kg dari bobot pakan	Mudah diaplikasikan pada pemeliharaan budidaya karena dapat dicampurkan pakan.	Andriani, <i>et al.</i> , 2019
3	<i>Cyprinus carpio</i>	<i>Latobacillus</i> sp. and <i>Bacillus</i> sp. padat dengan dosis 1.5 g/ kg dari bobot pakan	Dapat diaplikasikan dengan dicampurkan pada pakan	Rostika, <i>et al.</i> , 2020
4	<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>Bacillus</i> sp. NP5 cair dengan dosis 1% per kg dari bobot pakan	Mudah diaplikasikan pada pemeliharaan budidaya karena dapat dicampurkan pada pakan lalu dikeringanginkan	Widanarni <i>et al.</i> , 2014

Meskipun penggunaan probiotik dalam akuakultur relatif baru, minat terhadap probiotik telah meningkat karena potensinya dalam pengendalian penyakit. Manfaat probiotik pada berbagai jenis ikan dapat dilihat pada Tabel 7..

Tabel 7. Manfaat probiotik pada berbagai jenis ikan

No.	Jenis Ikan	Jenis Probiotik	Manfaat Pemberian Probiotik
1	<i>Sparus aurata</i> L.	<i>Bacillus licheniformis</i> (TSB27), <i>Lactobacillus thuringiensis</i> , <i>Bacillus plantarum</i> , <i>Bacillus subtilis</i> (B46).	Meningkatkan kekebalan tubuh (Bahi <i>et al.</i> , 2017)
2	<i>Solea senegalensis</i>	<i>Shewanella putrefaciens</i> Pdp11	Memodulasi pencernaan mikrobiota, peningkatan pertumbuhan (De Cortázar 2017)
3	Fish	<i>Bacillus pumilus</i> H2	Aktivitas anti-Vibrio (Gao <i>et al.</i> , 2017)
4	<i>Litopenaeus vannamei</i>	<i>Pseudomonas</i> sp. dan <i>Bacillus</i> sp.	Meningkatkan pertumbuhan pada penurunan bahan organik, rasio konversi pakan, peningkatan efisiensi pakan, dan pertumbuhan (Jefri, 2020)
5	<i>Anguilla japonica</i>	<i>Bacillus subtilis</i> WB6	Peningkatan berat badan, efisiensi dalam makanan dan protein (Lee <i>et al.</i> , 2017)
6	<i>Asian seabass</i>	<i>Lac. pentosus</i> BD6, <i>Lac. fermentum</i> LW2, <i>Bacillus subtilis</i> E20, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> PI3	Meningkatkan pertumbuhan dan ketahanan terhadap penyakit seabass Asia terhadap <i>Aeromonas hydrophila</i> (Lin <i>et al.</i> , 2017)
7	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	<i>Kocuria</i> SMI <i>Rhodococcus</i> SM2	Menghasilkan enzim ekstraseluler yang mungkin memiliki peran sebagai tuan rumah proses pencernaan (Sharifuzzaman <i>et al.</i> , 2017)

8	<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Meningkatkan pertumbuhan kinerja dan termodulasi beberapa parameter hematologi (Yamashita <i>et al.</i> , 2017)
9	Catfish	<i>Bacillus megaterium</i> <i>PTB I.4</i>	Meningkatkan aktivitas pencernaan enzim dan pertumbuhan ikan lele (Bahi <i>et al.</i> , 2017)
10	<i>Oreochromis</i> sp.	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Bacillus polymyxa</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Meningkatkan kinerja parameter zootechnical (Gutierrez <i>et al.</i> , 2017)
11	<i>Litopenaeus vannamei</i>	<i>Bacillus coagulans</i>	Meningkatkan penambahan berat badan, penambahan panjang dan FCR selama budidaya udang (Suri <i>et al.</i> , 2018)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan bakteri probiotik yang berasal dari usus ikan lele pada pakan mampu meningkatkan pertumbuhan, efisiensi pakan dan menurunkan rasio konversi pakan pada penambahan bakteri probiotik 1×10^8 cfu/mL (Manoppo *et al.*, 2019). Penelitian Saputra *et al.*, (2022) terhadap ikan Gabus yang diberikan probiotik *Lactobacillus casei* dan *Saccharomyces* mampu meningkatkan pertumbuhan panjang mutlak sebesar 4,67 cm dengan dosis probiotik 20ml/kg pakan. Pemberian paraprobiotik *Bacillus* sp. NP5 dengan dosis yang berbeda melalui pakan dapat meningkatkan kinerja pertumbuhan, respons imun dan resistansi ikan Nila terhadap infeksi *S. agalactiae* dengan dosis terbaik 10^{10} CFU/ml (Widanarni *et al.*, 2022). Hasil penelitian bisa

menyimpulkan bahwa penambahan probiotik *Bacillus subtilis* pada pakan ikan Kerapu (*Epinephelus coioides*) selama 30 hari berpengaruh nyata pada nilai Leukosit Respiratory Burst Activity (RBA) ikan. Bakteri *Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang aman untuk digunakan dalam budidaya sebagai agen untuk meningkatkan kualitas air dan pengendalian penyakit (Chen *et al.*, 2020).

DAFTAR PUSTAKA

- Adeoye, A.A., R. Yomla, A. Jaramillo-Torres, A. Rodiles, D.L. Merrifield & S.J. Davies. 2016. Combined effects of exogenous enzymes and probiotics on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth, intestinal morphology and microbiome. *Aquaculture*. 463: 61-70.
- Afrianto, E dan Liviawaty, E. 2019. Potensi mikroba probiotik dari ikan Nila mati masal di Waduk Cirata. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 10(2): 96-101.
- Agustina., Saptiani, G., Hardi, E. H. 2022. Isolation and identification of potential lactic acid bacteria as probiotics from the intestines of Repang fish (*Puntiplites waandersi*). *AAAL Bioflux* , 15(1): 24-33.
- Agustono., Suprpto, H. & Muhajir. 2012. Strategi bakteri probiotik untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen di dalam pencernaan kerapu (*Chromileptes altivelis*) dengan memproduksi beberapa bakterial substansi. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 4 (2): 199-205.
- Allameh., Daud, H., Yusoff, F. M., Saad, C. R. and Ideris, A. 2012. Paper isolation, identification and characterization of *Leuconostoc mesenteroides* as a new probiotic from intestine of snakehead fish (*Channa striatus*). *African Journal of Biotechnology*, 11(16): 3810- 3816.
- Alameri, F., Tarique, M., Osaili, T., Obaid, R., Abdalla, A., Masad, R., Al-Sbiei, A., Cabezudo, M. F., Liu, S. Q., Al-Ramadi, B., and Ayyash, M. 2022. Lactic acid bacteria isolated from fresh vegetable products: potential probiotic and postbiotic characteristics including immunomodulatory effects. *Microorganisms*, 10, 389.
- Al-Harbi A. H and Uddin, M. N. 2005. Bacterial biodiversity of tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in brackish water in Saudi Arabia. *Aquaculture*, 250: 566-572.
- Al-Harbi A. H and N. Uddin, M. N. 2012. Bacterial Content in the Intestine of Frozen Common Carp *C yprinus carpio*. *African Journal of Biotechnology*, 11(30): 7751-7755.

- Aly, S.M., W.G. Nough & M.M. Salem-Bekhit. 2012. Bacteriological and histopathological studies on enterobacteriaceae in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. J. Pharm. Biomed. Sci. 2: 94-104.
- Amri, K. dan Khairuman, 2003. Budidaya Ikan Nila Secara Intensif. Agromedia Pustaka, Depok.
- Anang, K. H dan E. Nugroho, 2008. Ikan Konsumsi Air Tawar Populer. Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta.
- Andriani, Y., Kanza, A. A., Rustama, M. M., dan Safitri, R. 2017. Characterization of Bacillus and Lactobacillus Encapsulated in various carrier materials for vannamei probiotics (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931). Jurnal Perikanan dan Kelautan, 7(2): 142-154.
- Andriani, Y., Anna, Z., Iskandar, S. Z., dan Wiyatna, M. F. 2019. The effectiveness of commercial probiotics appropriation on feed on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)'s growth and feed conversion ratio. Asian J. Microbiol. Biotechnol. Environ. Sci, 21: 1-4.
- Anggriani, R., Iskandar dan A. Taufiqurrahman. 2012. Efektivitas penambahan *Bacillus* sp. hasil isolasi dari saluran pencernaan ikan patin pada pakan komersial terhadap kelangsungan hidup dan pertumbuhan benih ikan nila merah (*Oreochromis niloticus*). Jurnal Perikanan dan Kelautan, 3(3): 75-83.
- Aritonang, S. N., Roza, E, Rossi E., Purwati, E and Husmaini. 2017. Isolation and identification of lactic acid bacteria from okara and evaluation of their potential as candidate probiotics. Pakistan Journal of Nutrition, 16(8): 618-628.
- Aryati, Y & Supriyadi, H. 2010. Eksplorasi bakteri probiotik sebagai antibakteri untuk penanggulangan penyakit *Streptococcosis*. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur. Pusat Riset Perikanan Budidaya. 911-915.

- Askarian, F., Zhou, Z., Olsen, R.E., Sperstad, S., & Ringo, E. 2012. Culturable autochthonous gut bacteria in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets with or without chitin. Characterization by 16S rRNA gene sequencing, ability to produce enzymes and *in vitro* growth inhibition of for fish pathogens. *Aquaculture Journal*, 326-329: 1-8.
- Asril, M dan Leksikowati, S. S. 2019. Isolasi dan seleksi bakteri proteolitik asal limbah cair tahu sebagai dasar penentuan agen pembuatan biofertilizer. *Jurnal of Islamic Science and Technology*, 5(2): 86-99.
- Austin, B. 2002. The bacterial microflora of fish. Mini-Review. *The Scientific World Journal*. 2: 558.572
- Ayaz, N. O. 2012. Formation of proteases from newly isolated strain isolated from Saudi Arabia. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(8): 19-26.
- Baehaki, A., Rinto, and Budiman, A. 2011. Isolasi dan karakterisasi protease dari bakteri tanah rawa Indralaya Sumatera Selatan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 22(1): 40-45.
- Bahi, A, Guardiola, F.A., Messina, C., Mahdhi, A., Cerezuela, R., Santulli, A., & Esteban, M. A. 2017. Effects of dietary administration of fenugreek seeds, alone or in combination with probiotics, on growth performance parameters, humoral immune response and gene expression of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish dan Shellfish Immunology*. 60: 50-58.
- Banerjee, G., Ray, A.K., Askarian, F., & Ringo, E. 2013. Characterization and identification of enzyme-producing autochthonous bacteria from gastrointestinal tract of two Indian air-breathing fish. *Beneficial Microbes Journal*, 4(3): 277-284.
- Barrow, P. A., 1992. *Probiotics for Chickens*, In : *Probiotics the Scientific Basis*. R. Fuller (Ed). Chapman & Hall , London. Pp. 225-259.
- Bella, S. S. 2018. Isolasi Bakteri Probiotik dari Organ Pencernaan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *E-Journal Budidaya Perairan*, 6(1).

- Beiwi, D. A and Al Hisnawi, A. 2020. Effect of *Bacillus subtilis* as probiotic on intestinal microbiota and growth performance of common carp (*Cyprinus carpio*). The 8th International Conference on Applied Science and Technology (ICAST 2020). AIP Conf. Proc. 2290, 030004-1–030004-8; <https://doi.org/10.1063/5.0027550>: 1-8.
- Bereded, N.K., M. Curto, K.J. Domig, G.B. Abebe, S.W. Fanta, H. Waidbacher & H. Meimberg. 2020. Metabarcoding analyses of gut microbiota of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from Lake Awassa and Lake Chamo, Ethiopia. *Microorganisms*. doi:10.3390/microorganisms.8071040.
- Bernard, V. H., Nurhidayu, A., Ina-Salwany, M. Y and Abdelhadi, Y. 2013. *Bacillus cereus*; JAQ04 Strain as a potential probiotic for red tilapia; *Oreochromis* species. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(2): 395-400.
- Bestian, C. 1996. Kelangsungan hidup dan pertumbuhan benih ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) pada kisaran suhu media 24 ± 1 oC dengan salinitas yang berbeda 0, 10 dan 20o/oo. Fakultas Perikanan. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Bhandary, T., Riyaz, A. L and Paari, K. A. 2021. Probiotic Properties of *Bacillus subtilis* Isolated from dried anchovies (*Stolephorus indicus*) and evaluating its antimicrobial, antibiofilm and growth-enhancing potential in *Danio rerio*. *Journal of Animal Health and Production*, 9(3): 205-212.
- Bukhori, A., dan Sartini, S. 2020. Isolasi bakteri asam laktat (BAL) dari saluran pencernaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dan kemampuannya dalam menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Shigella* sp. *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA)*, 2(1): 23-31.
- Buwono, I. D. 2000. Kebutuhan Asam Amino Esensial dalam Ransum Ikan. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Candra, A. Fitri, F. I., Nazriani, D., & Rahayu, S. U. 2020. Production of kombucha tea as alternative source of probiotic drink in Mandailing Sub-district Tebing Tinggi City. *Abdimas Talenta*, 5(2): 552-558.

- Cavalcante R. B., Telli G. S., Tachibana L., Dias D. C., Oshiro E., Natori M. M., da Silva W. F., Ranzani-Paiva M. J. 2020. Probiotics, prebiotics and synbiotics for Nile tilapia: growth performance and protection against *Aeromonas hydrophila* infection. *Aquaculture Reports* 17: 100343.
- Chavarin. R. M. L., C. Wachter, C., E. Campos, C. A. & P. M. L-Chabela. 2013. Probiotic potential of thermotolerant lactic acid bacteria strains isolated from cooked meat products. *International Food Research Journal*, 20(2): 991-1000.
- Chen, J., X.-bo Fang dan H. Yu. 2010. Isolation, identification and characterization of *Bacillus thuringiensis* ZJOU-010, a chitosanase- producing bacterium. *Proceedings of the Twentieth (2010) International Offshore and Polar Engineering Conference Beijing, China, June 20- 25.*
- Chen, B., Peng, M., Tong, W., Zhang, Q. and Song, Z. 2020. The quorum quenching bacterium *Bacillus licheniformis* T-I protects zebrafish against *Aeromonas hydrophila* infection. *Probiotics and Antimicrobial Proteins publishes reviews*. 12: 160-171.
- Cho H., L. Liu., K. Liu., Y. Zhu., M. Dziong., L. Lu and X. Yang. 2010. Phenotypic characterization and phylogenetic analysis of a virulent *Bacillus cereus* Strain from the Tiger Frog, *Hoplobatrachus rugulosus* Wiegmann. *African Journal of Microbiology Research*, 4(24): 2780-2786.
- Chovatiya, S., K. Dhola., P. Patel and S. Ingale. 2014. Isolation, characterization and optimization of protease enzyme producing microorganism from gastrointestinal tract of *Labeo rohita*. *International Journal of Pure Application Bioscience*, 2(3): 124-134.
- Chowdhury M. A., Roy N. C., 2020. Probiotic supplementation for enhanced growth of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) in cages. *Aquaculture Report* 18:100504.
- Cowan, S. T dan Steel's., 1975. *Manual for the Identification Medical Bacteria*. Cambridge University Press, Cambridge, London.

- Das, P., S. Mandal, A. Khan, S.K. Manna & K. Ghosh. 2014. Distribution of extracellular enzyme-producing bacteria in the digestive tracts of four brackish water fish species. *Turkish J. Zool.* 38. 79-88.
- Davin-Regli, A., J.P. Lavigne & J.M. Pagès. 2021. Enterobacter spp.: Update on taxonomy, clinical aspects, and emerging antimicrobial resistance. *Clin. Microbiol. Rev.* 32: e00002-19. doi:10.1128/CMR.00002-19
- Del'Duca, A., Cesar, D. E., Diniz, C. G. and Abreu, P. C. 2013. Evaluation of the presence and efficiency of potential probiotic bacteria in the gut of tilapia (*Oreochromis niloticus*) using the fluorescent in situ hybridization technique. *Aquaculture*. 3880391: 115-121.
- De Cortázar, C.L.G. 2017. Effects of the administration of the probiotic *Shewanella putrefaciens* PdpII bioencapsulated in live food in the larval culture and weaning of the senegalese sole (*Solea senegalensis*) (Kaup, 1858). *Revista AquaTIC*. 45: 10-12.
- Dewi R dan Evi T. 2017. Pemanfaatan probiotik komersial pada pembesaran ikan lele (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Riset Akuakultur*, 12(3): 275-281.
- Didinen, B. I., Metin, S., Cayli, O. and Ersoy, A. T. 2013. Screening for candidate probiotic bacteria for the control of *Vibrio anguillarum* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of Fisheries Sciences*, 7(4): 317-322.
- Diwan, A.D., S.N. Harke, G. Gopalkrishna & A.N. Panche. 2021. Aquaculture industry prospective from gut microbiome of fish and shellfish: An overview. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)*. n/a. doi:https://doi.org/10.1111/jpn.13619
- Djauhari, R., Evlin, L. S. S., Murrod, C. W., Shinta, S. M. dan Ivone, C. 2022. Kinerja pertumbuhan ikan gabus (*Channa striata*) yang diberi prebiotik madu dan probiotik *Lacticaseibacillus paracasei*. *Jurnal Perikanan*. 12 (3): 457-466.
- Efendi, Y. & Yusra. 2014. *Bacillus subtilis* strain VITNJI potential probiotic bacteria in the gut of tilapia (*Oreochromis niloticus*) are cultured in floating net, Maninjau Lake, West Sumatera. *Pakistan Journal of Nutrition*, 13, 710-715.

- Efendi, Y., Yusra dan Efendi, V. O. 2017. Optimasi potensi bakteri *Bacillus subtilis* sebagai sumber enzim protease. *Jurnal Akuatika Indonesia*, 2(1): 87-94.
- El-Adawy, M. M. 2019. Characterization of probiotic *Bacillus subtilis* isolated from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) digestive tract and evaluation its positive impact on health and nonspecific immunity of Nile tilapia. *Egyptian Journal for Aquaculture*, 9(2): 1- 26.
- Erzaneti, R., Erlangga., dan Erliza, M. 2018. Fortifikasi probiotik dalam pakan untuk meningkatkan pertumbuhan ikan gurami (*Osporonemus goramy*). *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal*, 5(2): 64-68.
- Fardiaz. 1989. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan*. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Fardiaz, S. 1987. *Mikrobiologi Pangan I*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- FAO/WHO. 2006. Probiotics in Food: Health and Nutritional Properties and Guidelines for Evaluation. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, Cordoba, Argentina, 1-4 October 2001.
- Flores. M. L and Novoa, M. A. O. 2013. The use of lactic acid bacteria isolated from intestinal tract of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), as growth promoters in fish fed low protein diets. *Latin America Journal Aquatic Resources*, 41(3): 490-497
- Fransiska, J. D., Raza'I, T. S., dan Wulandari, R. 2019. Potensi daya hambat bakteri asam laktat dari saluran pencernaan ikan bawal bintang *Trachinotus blochii* terhadap bakteri *Vibrio harveyi* secara in vitro. *Intek Akuakultur*, 3(1): 57-65.
- Gangasuresh, P. and Bharathi, M. R. 2014. Comparative diversity profiles of gastrointestinal microflora of normal and sick "*Oreochromis mossambicus* (Peters)". *Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology*, 4(2): 91-96.

- Ganguly, S & A. Prasad. 2012. Microflora in fish digestive tract plays significant role in digestion and metabolism. *Rev. Fish Biol. Fish.* 22. 11-16. doi:10.1007/s11160-011-9214-x
- Gao, X.Y., Liu, Y., Miao, L.L., Li, E.W., Hou, T.T., Liu, Z.P. 2017. Mechanism of anti-vibrio activity of marine probiotic strain *Bacillus pumilus* H2, and characterization of the active substance. *AMB Express.* 7(1): 23
- Gao, X., H. Zhang, Q. Jiang, N. Chen, X. Li, X. Liu, H. Yang, W. Wei & X. Zhang. 2019. *Enterobacter cloacae* associated with mass mortality in zoea of giant freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii* and control with specific chicken egg yolk immunoglobulins (IgY). *Aquaculture.* 501: 331-337. doi:https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.11.050.
- Gao, X., Y. Zhou, X. Zhu, H. Tang, X. Li, Q. Jiang, W. Wei & X. Zhang. 2021. *Enterobacter cloacae*: A probable etiological agent associated with slow growth in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture.* 530: 735826. doi:https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735826.
- Geethanjali, S. and Subash, A. 2011. Optimization of protease production by *Bacillus subtilis* isolated from mid gut of fresh water fish *Labeo rohita*. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 3(1): 88-95.
- Ghosh, S., Ringoe, E., Selvam, A. D. G., Mujeeb, R. K. M., Naveem, S., Nifty, J. and Hatha, A. A. M. 2014. Gut associated lactic acid bacteria isolated from the estuarine fish *Mugil cephalus*: molecular diversity and antibacterial activities against pathogens. *International Journal of Aquaculture*, 4(1): 1-11.
- Ginting, S. S. B. 2017. Isolasi dan karakterisasi bakteri potensial probiotik pada saluran pencernaan ikan bandeng (*Chanos chanos*). Skripsi. Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara.
- Gobinath, J & Ramanibai, R. 2012. Effect of probiotic bacteria culture on pathogenic bacteria from fresh water fish *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Modern Biotechnology* , 1(1): 50-54.

- Goh, L.P.W., Molujin, A.M., Muthu, K., Abdulla, R., Sabullah, M. K., Faik, A.A.M., Gansau, J. A., and Jawan, R. 2021. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from sabah (North Borneo) stingless bees for probiotic and food applications. *International Journal Of Food Properties*, 24(1): 564-578.
- Gomez, N. C., Ramiro, J. M. P., Quecan, B, X. V., and de Melo Franco, B. D. G. 2016. Use of potential probiotic lactic acid bacteria (LAB) biofilms for the control of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, and *Escherichia coli* O157:H7 biofilms formation. *Frontiers in Microbiology. Food Microbiology*, 7(863): 1-15.
- Guo, T.Y., W.Zhao, J.Y. He, S.Y. Liao, J.J. Xie, S.W. Xie, K. Masagounder, Y.J. Liu, L.X. Tian & J. Niu. 2020. Dietary dl.Methionyl.dl. Methionine supplementation increased growth performance, antioxidant ability, the content of essential amino acids and improved the diversity of intestinal microbiota in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Br. J. Nutr.* 123: 72-83. DOI: 10.1017/S0007114519002289.
- Gupta, R., Beg, Q. and Lorenz, P. 2002. Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59: 15-32.
- Gupta, M.V and Acosta, B. O. 2004. A Review of Global Tilapia farming Practices. Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific – Sustainable Aquaculture. Enaca.
- Gutiérrez, R.L.A., Ruales, D., Arturo, C., Montoya. C.O.I., Betancur G.E. 2016. Effect of the inclusion in the diet of microencapsulated probiotics on some zootechnical parameters in red tilapia fingerlings (*Oreochromis* sp.). *Revista de Salud Animal*. 38(2): 112-119.
- Hadioetomo. 1985. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. PT. Gramedia. Jakarta.
- Haetami, K., Mulyani, Y., Abun, A., dan Junianto, J. 2019. Protolithic potential of *Bacillus* sp. from fish gut and nutrient content of substrate. *Scientific Papers: Series D, Animal Science-The International Session of Scientific Communications of the Faculty of Animal Science*, 62(2).

- Haetami, K., Yuniar, M., dan Aisyah, 2022. Pengaruh induksi probiotik *Bacillus Cgm22* pada pakan terhadap pertambahan bobot ikan dan morfometrik villi usus ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Journal Perikanan*, 12 (3): 395-407.
- Hamid, M & Abulfazl, B. 2012. Isolation and molecular study of potentially probiotic *Lactobacilli* in Traditional white cheese of tabriz in Iran. *Annals of Biological Research*, 3(4): 2019-2022.
- Hariani, D., dan Purnomo, T. 2017. Pemberian probiotik dalam pakan untuk budidaya ikan lele. *STIGMA: Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Unipa*, 10(01).
- Haryani, G. S. 2013. Kondisi Danau di Indonesia dan Strategi Pengelolaannya. *Limnology, LIPI*, 2: 1-19
- Hartami, P. 2008. Analisis Wilayah Perairan Teluk Pelabuhan Ratu Untuk Kawasan Budidaya Perikanan Sistem Keramba Jaring Apung. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Harrysu, 2012. Budidaya Ikan Nila. Kanisius: Yogyakarta.
- Hasan, K. N & B. Goutam, 2020. Recent studies on probiotics as beneficial mediator in aquaculture: a review. *The Journal of Basic and Applied Zoology*. 81:53: 1-16. <https://doi.org/10.1186/s41936-020-00190-y>.
- Hendrajat, E. A. 2018. Budidaya ikan bandeng dalam keramba jaring apung di muara sungai Borongkalukua, Kabupaten Maros. *Prosiding Simposium Nasional Kelautan dan Perikanan*, 5, Article 5.
- Hiraishi, A., Kamagata, Y. and Nakamura, N. 1995. Polymerase chain reaction amplification and restriction fragment length polymorphism analysis of 16S rRNA Genes from methanogens. *J. Ferm Bioen*, 79: 523-529.
- Ibrahim, B. U., Baba, J. and Sheshi, M. S. 2014. Isolation and Identification of bacteria associated with fresh and smoked fish (*Clarias gariepinus*) In Minna Metropolis, Niger State. Nigeria. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 2(3): 81-85.

- Iorizzo, M., Albanese, G., Testa, B., Ianiro, M., Letizia, F., Succi, M., Tremonte, P., D'Andrea, M., Iaffaldano, N. and Coppola, R. 2021. Presence of lactic acid bacteria in the intestinal tract of the mediterranean trout (*Salmo macrostigma*) in its natural environment. II, 667. <https://doi.org/10.3390/life11070667>.
- Iskandar, A. 2003. *Budidaya Ikan Nila Merah (Oreochromis sp)*. Karya Putra Darawati. Bandung.
- Jahangiri, L., Sudagar, M., Ashayerizadeh, O., Kolangi, H., and Tabarraei, A., 2018. Isolation of probiotic bacteria from guppy poeciliareticulata (*Cyprinodontiformes: Poeciliidae*). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 18: 809-815.
- Jahangiri, L and Maria, A. E. 2018. Administration of probiotics in the water in finfish aquaculture systems: A Review. Fishes, 3(33): 1-13. doi:10.3390/fishes3030033.
- Jang W. J., Leeb J. M., Hasana M. T., Leed B. J., Lim S. G., Konga I. S., 2019. Effects of probiotic supplementation of a plant-based protein diet on intestinal microbial diversity, digestive enzyme activity, intestinal structure, and immunity in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Fish & Shellfish Immunology 92: 719-727.
- Jayadi., Harlina., Andi, H., Nursyahran dan Suryadi. 2021. Peningkatan kinerja pertumbuhan benih ikan gabus (*Channa striata*) dengan probiotik EM4. Jurnal Galung Tropika, 10 (1): 22 - 30.
- Jefri, M. 2020. Aplikasi probiotik *Pseudomonas* sp. dan *Bacillus* sp. terhadap penurunan bahan organik, rasio konversi pakan, peningkatan efisiensi pakan dan pertumbuhan pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Disertasi, Universitas Airlangga.
- Kathade, S. A., Aswani, M. A., Anand, P. K., Jagtap, S., and Bipinraj, N. K. 2020. Isolation of *Lactobacillus* from donkey dung and its probiotic characterization. Korean Journal of Microbiology, 56(2): 160-169.

- Kavitha M., Raja M., Perumal P., 2018 Evaluation of probiotic potential of *Bacillus* spp. isolated from the digestive tract of freshwater fish *Labeo calbasu* (Hamilton, 1822). Aquaculture Report 11:59-69.
- Khairuman dan Amri. K. 2007. Budidaya Ikan Nila Secara Intensif. Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Khan, M. N., Lin, H., Wang, J., Li, M. and Mirani, Z. A. 2014. RecA-based identification and antagonistic potential against fish pathogens by marine isolate DKI-SAIL. Indian Journal of Geo-Marine Sciences, 43(5): 731-736.
- Kherraz, D. C., Sahnouni, F., Matallah-Boutiba, A. and Boutiba, Z. 2012. The probiotic potential of *Lactobacilli* Isolated from nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)'s intestine. African Journal of Biotechnology, 11(68): 13220-13227.
- Khotimah, K., Elva, D. H. dan Ramila, S. 2016. Pemberian probiotik pada media pemeliharaan benih ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) dalam akuarium. Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia, 4(2): 152-158.
- Kolindadacha, O. D., Adikwu, A., Orgem, C. M., Atiribom, R. Y. and Badmus, O. 2013. The Potential probiotic bacteria associated with catfish (*Clarias anguillaris* and *Heterobranchus bidorsalis*) in concrete tanks in Kanji Lake Area, Nigeria. International Journal of Microbiology and Immunology Research, 2(3): 24-28.
- Kong Y., Gao C., Dub X., Zhao J., Lia M., Shana X., Wang G. 2020. Effects of single or conjoint administration of lactic acid bacteria as potential probiotics on growth, immune response and disease resistance of snakehead fish (*Channa argus*). Fish & Shellfish Immunology, 102: 412-421.
- Kumaran. E., Mahalakshmi Priya, A. and Rajan, S. 2013. Effect of fish waste based *Bacillus* Protease in silver recovery from waste X-ray Films. International Journal of Current Microbiology and Applied Science, 2(3): 49-56.
- Kurniasih, T., A.M. Lusiastuti, Z.I. Azwar & I. Melati. 2014. Isolasi dan seleksi bakteri saluran pencernaan ikan lele sebagai upaya mendapatkan kandidat probiotik untuk efisiensi pakan ikan. J. Ris. Akuakultur. 9: 99. doi:10.15578/jra.9.1.2014.99-109.

- Kuswari, P. M. 2021. Antagonisme bakteri yang berasal dari usus ikan sapu-sapu (*Hypostomus plecostomus*) terhadap bakteri patogen. Skripsi. Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas pertanian, Universitas Islam Riau, Pekanbaru.
- Kweon, C.H., Choi, S. Y., Kwon, H. Y., Kim, E. H., Kang, H. M., Moon, J. S., Jang, G. C., Lee, H. S., Kang, S. W., Kim, J. M., Pyo, S. and Rhee, D. K. 2012. Isolation, characterization, and evaluation of *Bacillus thuringiensis* isolated from cow milk. Korean Journal of Veterinary Resources, 52(3): 169-176.
- Lay B. W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: PT. Raja Persada.
- Lestari, S., Suprayitono, E. dan Hariatim A. 2019. The influence of fermentation time on physical and proximate characteristic on palm kernel meat using *Bacillus licheniformis*. International Journal of Scientific and Technology.
- Lee, S., Katya, K., Park, Y., Won, S., Seong, M., Bai, S.C. 2017. Comparative evaluation of dietary probiotics *Bacillus subtilis* WB60 and *Lactobacillus plantarum* KCTC3928 on the growth performance, immunological parameters, gut morphology and disease resistance in Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fish dan Shellfish Immunology*. 61: 201-210.
- Lewis, H. D. 1973. *Predominant Aerobic Bacteria of Fish and Shellfish*. Department of Veterinary Microbiology. Texas A & M University. College Station. Texas.
- Lestari, S., Selly, R. S., Donny, P., Ion, T. S., Rani, R. R. 2022. Efektivitas metode pemberian probiotik terhadap pertumbuhan ikan gabus (*Channa striata*). Jurnal Ilmu Perikanan dan Kelautan, 4(3): 166-172.
- Li, J., Ni, J. Li, C. Wang, X. Li, S. Wu, T. Zhang, Y. Yu & Q. Yan. 2014. Comparative study on gastrointestinal microbiota of eight fish species with different feeding habits. *J. Appl. Microbiol.* 117: 1750-1760. doi:10.1111/jam.12663.
- Lin, H.L., Shiu, Y.L., Chiu, C.S., Huang, S.L., Liu, C.H. 2017. Screening probiotic candidates for a mixture of probiotics to enhance the growth performance, immunity, and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch), against *Aeromonas hydrophila*. *Fish dan Shellfish Immunology*. 60: 474-482

- Lin T., Liu X., Xiao D., Zhang D., Cai Y., Zhu X., 2019 *Lactobacillus* spp. as probiotics for prevention and treatment on enteritis in the lined seahorse (*Hippocampus erectus*) juveniles. *Aquaculture* 503:16-25.
- Ling Y., Zang R., Ke C., Hong G. 2018. Effects of dietary supplementation of probiotics on growth, immune responses, and gut microbiome of the abalone *Haliotis disvericolor*. *Aquaculture* 493:289-295.
- Listiowati, E., A. Ekasanti, D. Nugrayani, H. Syakuri, D. Wisudyanti, M. Nurhafid, dan Y. Evander. 2022. Studi komunitas bakteri hidrolitik saluran pencernaan ikan nilam (*Osteochilus vittatus*) yang dibudidayakan di Kabupaten Banyumas. *Jurnal Akuakultur Sungai dan Danau*, 7(2): 115-124.
- Lusiastuti, A.M., Sugiani, D. & Novita, H. 2015. Molecular identification of probiotic bacteria as biological control agent in freshwater aquaculture. *In press*.
- Manoppo, H., Reiny A. T., Hengky J. S., and Intan A. N. 2019. The use of probiotic isolated from Sangkuriang catfish (*Clarias gariepinus* var. Sangkuriang) intestine to improve growth and feed efficiency of carp, *Cyprinus carpio*. *AACL Bioflux*, 12(1): 239-245.
- Manoppo, H., Reiny A. T., and Jeane, S. 2020. Oral administration of probiotic improve survival of common carp (*Cyprinus carpio*) against *Aeromonas hydrophila* infection. *AACL Bioflux*, 13(6): 3377-3383.
- Miyazaki Y., Takahashi, K., and Akiba, Y. 2007. Developmental changes in mRNA expression in immune-associated Ccells of intestinal tract of broiler chickens after hatch and by dietary modification. *Animal Science Journal*, 78: 527-534.
- Moeljanto, 1992. *Pengawetan dan Pengolahan Hasil Perikanan*, Jakarta , Penebar Swadaya.
- Mohammadian, T., Nasirpour, M., Tabandeh M. R., Mesbah M. 2019. Synbiotic effects of B-glucan, mannan oligosaccharide and *Lactobacillus casei* on growth performance, intestine enzymes activities, immune-hematological parameters and immunerelated gene expression in common carp, *Cyprinus carpio*: an experimental infection with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 511:634-197.

- Mohapatra S, .Chakraborty, AK Prusty, P Das, K Paniprasaddan KN Mohanta. 2011. Use of different microbial probiotics in the diet of rohu *Labeo rohita* fingerlings : effect on growth, nutrient digestibility and retention, digestive enzyme activities and intestine microflora. *Aquaculture Nutrition*, 18 :I-II.
- Mondal, S., Roy, T., Sen, S.K., & Ray, A.K. 2008. Distribution of enzyme-producing bacteria in the digestive tracts of some freshwater fish. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 38: I-8.
- Mudeng, C. C., Manoppo, H., Lantu, S., Kreckhoff, R. L., dan Tumbol, R. A. 2020. Suplementasi bakteri probiotik meningkatkan performa pertumbuhan dan efisiensi pakan benih ikan mas (*Cyprinus carpio*). *e-Journal Budidaya Perairan*, 8(I).
- Mulyadin, A., Widanarni., Yuhana, M., and Wahjuningrum, D. 2021. Growth performance, immune response, and resistance of Nile tilapia fed paraprobiotic *Bacillus* sp. NP5 against *Streptococcus agalactiae* infection. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 20(I): 34-46.
- Mukherjee, A., A. Rodiles, D.L. Merrifield, G. Chandra & K. Ghosh.2020. Exploring intestinal microbiome composition in three Indian major carps under polyculture system: A high-throughput sequencing-based approach. *Aquaculture*. 524: 735206. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735206>.
- Mulyasari, Widanarni, Suprayadi A., Zairin Jr., Sunarno M. T. D. 2016. Screening of probiotics from the digestive tract of gouramy (*Ospbronemus gouramy*) and their potency to enhance the growth of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *AAAL Bioflux* 9(5):1121-1132.
- Musikasang, H., Tani, A., Kittikun, A. H. and Maneerat, S. 2009. Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from chicken gastrointestinal digestive tract. *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 25: 1337–1345.
- Nasution, Z., Sari, Y.D. dan Huda, H.M. 2011. Perikanan budidaya di Danau Maninjauantisipasi kebijakan penanganan dampak kematian masal ikan. *Jurnal Kebijakan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan*, 1(I): 19-31.

- Natarajan, N and Rajikkannu, M. 2014. Antimicrobial activity of *Bacillus cereus* strain isolated from rohu (*Labeo rohita*). International Journal of Current Microbiology and Applied Science, 3(8): 474-480.
- Nguyen T. L., Park I. C., Kim D. H., 2017 Improved growth rate and disease resistance in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, by probiotic *Lactococcus lactis* WFLUI2 isolated from wild marine fish. Fish & Shellfish Immunology, 47:113-120.
- Novitarizky, I. A., Manoppo, H., Sammy N.J. Longdong, S. N. J. 2018. Isolasi bakteri probiotik *Lactobacillus* sp. dari usus ikan mas (*Cyprinus carpio*). Budidaya Perairan, 6(2): 17-24.
- Nugroho, E dan Anang, H. K. 2008. Panduan Lengkap Ikan Konsumsi Air Tawar Populer. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Nur, F., Hafsan., dan Andi, W. 2015. Isolasi bakteri asam laktat berpotensi probiotik pada Dangke, makanan tradisional dari susu kerbau di Curio Kabupaten Enrekang. Biogenesis. 3(1): 60-65.
- Nurhafid, M., Syakuri, H., Oedjijono, Listiowati, E, Ekasanti, A., Nugrayani, D., dan Pramono, H. 2021. Isolasi dan identifikasi molekuler bakteri proteolitik dari saluran pencernaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan di Kabupaten Banyumas. Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada, 23(2): 95-105.
- Nurhafid, M., Hamdan, S., Oedjijono., Emyliana, L., Anandita, E., Dewi, N. & Hendro, P. 2021. Isolasi dan identifikasi molekuler bakteri proteolitik dari saluran pencernaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan di Kabupaten Banyumas. Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada, 23(2): 95-105.
- Nurhidayu. A., Ina-Salwany, M. Y., Daud, H. M. and Harmin, S. A. 2012. Isolation, screening and characterization of potential probiotics from farmed tiger grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*). African Journal of Microbiology Research, 6(9): 1924-1933.

- O'Donnell, K. 1993. *Fusarium* and its near relatives. *in*: Reynolds, D.R. & Taylor, J.W. (eds). The fungal holomorph: mitotic, meiotic, and pleomorphic specification in fungal systematics. CAB International, Wallingford, pp. 225-233.
- Okereke, H. C., Achi, O. K., Ekwenye, U. N. and Orji, F. A . 2012. Antimicrobial properties of probiotic bacteria from various sources. African Journal of Biotechnology, 11(39): 9416-9421.
- Oktaviani, D. P., Septiyani, F., Ulfa, J. M., Evita, D., Fatimatuzzahroh, dan Shafiqah, N. A. 2021. Evaluasi penambahan probiotik bakteri asam laktat pada pakan terhadap pertumbuhan ikan gurame (*Osphronemus gouramy*). Manfish Journal, 2(1): 44-49.
- Oyeleke, S. B., Egwim, E.C and Auta, S.H, 2010. Screening of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus fumigatus* strains for extracellular protease enzyme production. Journal of Microbiology and Antimicrobials, 2(7): 83–87.
- Pandre, H. 2010. Budidaya Ikan Nila dan Bagaiman Membudidaya Ikan Nila. Malang: Universitas Muhammadiyah.
- Pangalila N., Manoppo H., Tumbol R. A., Lumenta C., Kreckhoff R. L., Warouw V., 2020. Immune response of carp *Cyprinus carpio* fed diet supplemented with *Lactobacillus* sp. with different concentration]. Ejournal Budidaya Perairan, 8(1): 38-47.
- Pelczar, M. J dan E. C. S. Chan., 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Terjemahan: R, S. Hadioetomo, T. Imas, S. S. Tjitrosomo dan S. L. Angka. UI Press, Jakarta.
- Peraturan Menteri Kelautan Dan Perikanan Republik Indonesia Nomor 57/Permen-KP. 2020. Perubahan Atas Peraturan Menteri Kelautan Dan Perikanan Nomor 17/Permen-Kp/2020 Tentang Rencana Strategis Kementerian Kelautan Dan Perikanan Tahun 2020-2024.
- Perdana, A. B. 2011. Studi keanekaragaman genetik bakteri dari usus ikan nila (*Oreochromis niloticus*) melalui teknik metagenom sequence based. Skripsi. Universitas Indonesia, Jakarta.

- Periadnadi, 2003. Vorkommen und stoffwechsellistungen von bakterien der gattungen Acetobacter und Gluconobacter Währen der Weinbereitung unter Berücksichtigung des Zucker Saure Stoffwechsels. Disertasi. Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfrut aM.
- Peristiwa., Sanjaya, Y. and Trinaya, C. 2019. Isolation and identification of potential culturable probiotics bacteria from intestine of *Anguilla bicolor*. OP Publishing. Journal of Physics: Conference Series. I280 022005: 1-6.
- Pitcher, D.G., Saunders, N. A. and Owen, R. J. 1989. Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidium thiocyanate. Letters in Application of Microbiology, 8:151-156.
- Poernomo, A.T., Isnaeni, Sugianto, Purwanto, D.A., Dewi, A.C. and Suryagama, D., 2017. Pengaruh nutrisi pada produksi dan karakterisasi protease dari bakteri termofilik isolat LS-I Lumpur Sidoarjo. Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia, 4(2): 52- 59.
- Purwandari, A. R. and Sari, D. N. R. 2022. Effect of probiotic *Bacillus subtilis* endospore on the immune system of Leukocytes Respiratory Burst Activity (RBA) in grouper (*Epinephelus coioides*). Jurnal Biota, 8(1): 25-32.
- Radulovic, Z., Paunovic, D., Petrusic, M., Mirkovic, N., Miocinovic, J., Kekus, D and Obradovic, D. 2014. The aplication of autochthonous potential of probiotic *Lactobacillus plantarum* 564 in fish oil fortified yoghurt production. Archives of Biological Sciences, 66(1): 15-22.
- Rahayu, E. S dan Margino, S. 1997. Bakteri Asam Laktat: Isolasi dan Identifikasi. PAU Pangan dan Gizi. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Ramadhanti, N., Melia, S., Hellyward, J., and Purwati, E. 2021. Characteristics of lactic acid bacteria isolated from palm sugar from West Sumatra, Indonesia and their potential as a probiotic. Biodiversitas, 22(5): 2610-2616.
- Rauta, P. R., Dhupa, M and Nayak, B. 2013. Screening and characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from vegetable waste and fish intestine. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 2: 234-244.

- Ray, B., 2005. *Fundamental Food Microbiology*. CRC Press Inc.p. 145-146.
- Ray, A.K., Roy, T., Mondal, S., & Ringo, E. 2010. Identification of gut-associated amylase, cellulase, and protease-producing bacteria in three species of Indian major carps. *Aquaculture Research*, 41:1462-1469.
- Ray, A.K., Ghosh, K., & Ringo, E. 2012. Enzyme producing bacteria isolated from fish gut. A review. *Aquaculture Nutrition*, 18: 465-492.
- Reneshwary, C., Rajalakshmi, M., Marimuthu, K., Xavier, R. 2011. Dietary administration of *Bacillus thuringiensis* on the cellular innate immune response of african catfish (*Clarias gariepinus*) against *A. hydrophila*. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 15: 53-60.
- Renuka, K. P., Venkateshwarlu, M. and Naik, A. T. R. 2014. Effect of probiotic (*Lactobacillus acidophilus*) on Haematological Parameters of *Catla catla* (Hamilton). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(8): 326-335.
- Ridwan, R. dan Kaharudin, L. O. 2021. Isolasi dan Identifikasi Molekular Bakteri Asam Laktat Penghasil Antimikrobia dari Saluran Pencernaan Belut (*Monopterus albus*). *Bio-Edu: Jurnal Pendidikan Biologi*, 6(3): 173-184.
- Ringø, E., Z. Zhou, J.L.G. Vecino, S. Wadsworth, J. Romero, A. Krogh, R.W. Olsen, A. Dimitroglou, A. Foey, S. Davies, M. Owen, H.L. Lauzon, L.L. Martinsen, P. De Schryver, P. Bossier, S. Sperstad & D.L. Merrifield. 2016. Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. A never-ending story? *Aquac. Nutr.* 22: 219- 282. doi:10.1111/anu.12346.
- Rochdianto, A. 2005. *Budidaya Ikan di Jaring Terapung*. Penebar Swadaya. Jakarta. 98 hal.
- Rochdianto, A. 2009. *Budidaya Ikan Nila*. Tabanan: Dinas Perikanan dan Kelautan Kabupaten Tabanan.
- Rolfe, R. D. 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *Journal of Nutrition*, 130: 396-402.

- Rolis. 2013. Pengaruh pemberian kombinasi tepung daging keong mas (*Pomeacea canaliculata*) dan tepung ikan terhadap pertumbuhan ikan patin (*Pangasius pangasius*). Skripsi. Program Studi Pendidikan Biologi. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Romanova, E., Spirina, E., Romanov, V., Lyubomirova, V., and Shadyeva, L. 2020. Effects of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on catfish in industrial aquaculture. E3S Web of Conferences 175, 02013. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202017502013>. : 1-10.
- Romero, J., E. Ringø & D.L. Merrifield. 2014. The gut microbiota of fish. Aquac. Nutr., Wiley Online Books. doi:<https://doi.org/10.1002/9781118897263.ch4>.
- Rostika, R., Azhima, M. F., Ihsan, Y. N., Andriani, Y., Suryadi, I. B. B., dan Dewanti, L. P. 2020. The use of solid probiotics in feed to growth and survival rate of mantap common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture, Aquarium, Conservation dan Legislation, 13(1): 199-206.
- Rusydi, R., Hartami, P., dan Khalil, M. 2017. Karakteristik nutrisi dan stabilitas pakan kombinasi ampel (ampas tahu dan pelet). Acta Aquatica, 4(1) : 4-7.
- Safitri, E. W. 2017. Determining the aquatic zoning principle of ranu grati lake in Kabupaten Pasuruan. Institut Teknologi Surabaya.
- Sahu, M. K., Swarnakumar, N. S., Sivakumar, K., Thangaradjou, T., & Kannan, L. 2008. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. Indian Journal of Microbiology, 48(3): 299-308
- Saidah, A. N. 2014. Isolasi bakteri proteolitik termofilik dari sumber air panas Pacet Mojokerto dan penguji aktivitas enzim protease. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Salminen, S., Ouwehand, A., Benno, Y. dan Lee, Y. K. 1999. Probiotics: How Should they be Defined. Trends in Food Science and Technology, 10: 107-110

- Samarzija, D., Antunac, N., dan Havranek, J.L. 2001. Taxonomy, physiology and growth *Lactobacillus lactis*; review. *Mljekarstvo*. 51(1): 35-48
- Saparinto, C dan Rini S. 2013. *Sukses Pembenihan 6 Jenis Ikan Air Tawar Ekonomis*. Lily Publisher: Yogyakarta.
- Saputra, F., Yusran, I., Dini, I., Mahendra., Muhammad, A. N. dan Ihsanul, K. 2022. Pemberian probiotik untuk optimalisasi kelangsungan hidup dan pertumbuhan ikan gabus lokal (*Channa sp.*) hasil domestikasi. *Jurnal Perikanan Tropis*. 9(1): 37-46.
- Satimah, S., Yuniarto, V. D. dan Wahyono, F. 2019. Bobot relatif dan panjang usus halus ayam broiler yang diberi ransum menggunakan cangkang telur mikropartikel dengan suplementasi probiotik *Lactobacillus sp.* *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 14(4): 396-403.
- Schmittou, H. 1991. Guidelines for raising principally omnivorous carps, catches and tilapias in cages suspended in freshwater ponds, lakes and reservoirs. In: Proceedings of the Peoples Republic of China Aquaculture and Feed Workshop. Akiyama, D. Editor. American Soybean Association: 24-42.
- Seputar Informasi Perikanan dan Kelautan. 2008. Jaring Apung. http://seputarberita.blogspot.com/2008_10_01_archive.html. (Akses 10 November 2009).
- Setyawardani, T., Raharjo, A. H. D. and Sulistyowati. 2017. Chemical characteristics of goat cheese with different percentages of mixed indigenous probiotic culture during ripening. *Media Peternakan*, 40(1): 55-62.
- Sharifuzzaman, S.M., Rahman, H., Austin, D.A., Austin, B. 2017. Properties of probiotics kocuria SMI and *Rhodococcus* SM2 isolated from fish guts. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 1:9
- Shivram, P.L & Vishwanath, P.P. 2012. Assesment of probiotic potential of *Lactobacillus sp* isolated from cheese and preparation of probiotic ice-cream. *IJRAP*, 3(4): 532-536.

- Silalahi, J. 2006. Antioksidan dalam Diet dan Karsinogenesis. *Cermin Dunia Kedokteran*, 153: 42-47.
- Sitohang, D. 2021. Pengaruh Keramba Jaring Apung (KJA) terhadap tingkat kesuburan perairan disekitar dan site Waduk PLTA Koto Panjang Kabupaten Kampar, Provinsi Riau. Skripsi. Fakultas Perikanan Dan Kelautan Universitas Riau Pekanbaru.
- Soemarwoto, O. 1997. *Ekologi, Lingkungan Hidup dan Pembangunan*. Cetakan Ketujuh (Edisi Revisi). Penerbit Djambatan. Jakarta.
- Soeka, Y. D dan M. Rahmansyah, 2014. *Bacillus subtilis* A9 producing lipase isolated from shrimp paste. *Global Journal of Biology Agriculturas and Health Sciences*, 3(1): 205-210.
- Soeka Y. S, dan Sulistiani S, 2017. Karakterisasi enzim protease dari bakteri *Stenotrophomonas* sp. asal Gunung Bromo Jawa Timur. *Berita Biologi*, 16(2): 203-211.
- Sornplang, P & Piyadeatsoontorn, S. 2016. Probiotic isolates from unconventional sources: a review. *Journal of Animal Science and Technology*, 58:26.
- Su, S., B.P. Munganga, F. Du, J. Yu, J. Li, F. Yu, M. Wang, X. He, X. Li, R. Bouzoualegh, P. Xu & Y. Tang. 2020. Relationship between the fatty acid profiles and gut bacterial communities of the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) from ecologically different habitats. *Frontiers in microbiology*, 11, 565267. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.565267>.
- Subagiyo dan Djunaedi, A. 2011. Skrining kandidat bakteri probiotik dari saluran pencernaan ikan kerapu berdasarkan aktivitas antibakteri dan produksi enzim proteolitik ekstraseluler. *Jurnal Ilmu Kelautan*, 16(1): 41-48.
- Sucipto dan Prihartono. 2007. *Pembesaran Nila Hitam Bangkok di Karamba Jaring Apung*. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta.

- Sudarmadji, S., Haryono, B. dan Suhardi. 1996. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta.
- Suganya, K., Murugani, T. and Murugan, M. 2013. Isolation and characterization of probiotic lactic acid bacteria from milk and curd samples. *International Journal of Pharmacion Biology Science*, 4(1): 317 - 324.
- Sumardi., Rima, K., Farisi, S., and Widiastuti, E. L. 2021. Probiotic candidate proteolytic *Bacillus* sp. collected from mangrove of Margasari, Lampung. *Indonesian Journal of Forestry Research*, 8(1): 73-84.
- Sumarsih, S. 2003. *Mikrobiologi Dasar*. UPN Veteran. Yogyakarta.
- Suri, R., Putri, B., dan Susanti, O. 2018. Studi tentang penggunaan pakan komersil yang dicampur dengan bakteri *Bacillus coagulans* terhadap performa *Litopenaeus vannamei*. *e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, 7(1).
- Suryani., Purnawati, Y., Putri, S. G., Rahmawati ., Akbar, Y., and Yusra. 2022. New Probiotic Isolation of Coconut Water's Helpful Lactic Acid Bacteria Cure Covid-19 Patients. *ARRUS Journal of Engineering and Technology*, 2(1): I-II.
- Suwannapha, S. 2021. Isolation, identification and potential probiotic characterization of lactic acid bacteria from thai traditional fermented. *Microbiology*, 7(4): 431-446.
- Sveinsdottir, H., Steinarsson, A., Gudmundsdottir, A. 2009. Differential protein expression in early Atlantic cod larvae (*Gadus morhua*) in response to treatment with probiotic bacteria. *Comp. Biochem. Physiol.* 4: 249-254.
- Syandri, H., Kusuma, H. dan Ernijuita. 2000. Pengaruh perikanan keramba jaring apung dan PLTA terhadap perairan Danau Maninjau. Laporan Kerja Sama Penelitian. Padang: PT PLN (Persero) Sektor Bukit Tinggi dengan Elsals Padang.
- Syandri, H. 2013. Penggunaan ikan nilam (*Osteochilus haselti* CV) dan ikan tawes (*Puntius javanicus* CV) sebagai agen hayati pembersih perairan Danau Maninjau, Sumatera Barat. *Jurnal Natur Indonesia*, 6(2): 87-90.

- Tachibana, L., G.S. Telli, D. De-C. Dias, G.S. Gonçalves, M.C. Guimarães, C.M. Ishikawa, R.B. Cavalcante, M.M. Natori, M.F. Fernandez-Alarcon, S. Tapiapaniagua, M.A. Morfiño, F.J. Moyano, E.R.L. de Araújo & M.J.T. Ranzani-Paiva. 2021. *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): effects on Growth Performance, Gut Microbiota Modulation and Innate Immunology. *Aquac. Res.* 52. 1630-1642. doi:<https://doi.org/10.1111/are.15016>.
- Talpur, A.D., Memon, A. J., Khan, M. I., Ikhwanuddin, M., Danish, M. M., Daniel. and Abol-Munafi, A.B. 2012. Inhibition of pathogens by lactic acid bacteria and application as water additive, multi isolates in early stages larva culture of *P.pelagicus* (Linnaeus, 1758). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 22(1): 54-64.
- Talwar, C., S. Nagar, R. Lal & R.K. Negi. 2018. Fish gut microbiome: current approaches and future perspectives. *Indian J. Microbiol.* 58: 397-414. doi:10.1007/s12088-018-0760-y.
- Tanbiyaskur. 2011. Efektivitas pemberian probiotik, prebiotik dan sinbiotik melalui pakan untuk pengendalian infeksi *Streptococcus agalactiae* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Tesis. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Tannis, A. 2008. [Probiotic rescue: how you can use probiotics to fight cholesterol, cancer, superbugs, digestive complaints and more.](#) Wiley. ISBN 978-0-470-15475-5. Page.35.
- Tarigan, J. 1988. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Jakarta.
- Tengjaroenkul, B., B. J. Smith., T. Caceci and S. A. Smith. 2000. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, 182: 317-327.
- Thillaimaharani, K. A., Logesh, A. R., Sharmila, K., Kaja Magdoo, B. and Kalaiselvam, M. 2012. Studies on the intestinal bacterial flora of tilapia *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) and optimization of alkaline protease by

- Virgibacillus pantothenicus*. Journal of Microbiology and Antimicrobials, 4(5): 79-87.
- Toledo A., Frizo L., Signorini M., Bossier P., Arenal A., 2019 Impact of probiotics on growth performance and shrimp survival: A meta-analysis. Aquaculture 500:196-205.
- Trakroo, M. D and Agarwal, R. 2011. Qualitative and quantitative study on bacterial flora of farm raised rohu, *Labeo rohita* (Ham.) in India. Journal of Recent Trends in Biosciences, I(2): 66-71.
- Ullah A., Zuberi A., Ahmad M., Shaha A. B., Younus N., Ullah S., Khattak M. N. K. 2018. Dietary administration of the commercially available probiotics enhanced the survival, growth, and innate immune responses in Mori (*Cirrhinus mrigala*) in a natural earthen polyculture system. Fish & Shellfish Immunology, 72: 266-272.
- Undi C. S., Manoppo H., Kreckhoff R. L., Tumbol R. A., Pangkey H. 2020. Use of probiotic to enhance non specific immune response of carp (*Cyprinus carpio*). E-journal Budidaya Perairan 8(2):42-50.
- Velooralappil, N. J., Robinson, B.S., Selvanesan, P., Sasidharan, S., Kizhakkepawothail, N. U., Sreedharan, S., Prakasan, P., Moolakkariyil, S. and Sailas, B. 2013. Versatility of Microbial Proteases. *Advances in Enzyme Research*.
- Wang, A. L., Zheng, G. L., Liao, S. A., Huang, H. H., & Sun, R. Y. 2007. Diversity analysis of bacteria capable of removing nitrate/nitrite in a shrimp pond. Acta Ecologica Sinica, 27(5): 1937-1943.
- Wang, Y. M., & Wang, Y. G. 2008. Advance in the mechanisms and application of microecologies in aquaculture. Progress in Veterinary Medicine, 29, 72–75.
- Wang H., Wang C., Tang Y., Sun B., Huang J., Song X., 2018 Pseudoalteromonas probiotics as potential biocontrol agents improve the survival of Penaeus vannamei challenged with acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND)-causing *Vibrio parahaemolyticus*. Aquaculture, 494: 30-36

- Wang Y. C., Hu Y. S., Chiu S. C., Liu H. C. 2019. Multiple-strain probiotics appear to be more effective in improving the growth performance and health status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, than single probiotic strains. *Fish & Shellfish Immunology*, 84: 1050-1058.
- White, T. J., Bruns, T. D., Lee, S. B. and Taylor, J. W. 1990. Amplified and direct sequencing of fungal RNA genes for phylogenetic. In: Innis, M. A., D. H. Gelfand., J. J. Sninsky and T. J. White. (eds) PCR protocols. Academic, San Diego, pp. 315-322.
- Widanarni., Jeanni, I. N., dan Sukenda. 2014. Prebiotik, probiotik, dan sinbiotik untuk mengendalikan koinfeksi *Vibrio harveyi* dan IMNV pada udang vaname. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 13 (1): 11–20.
- Wu, J.W.F.W., Solano, M.R., Uribe, L., Jones, R.W.C., Usaga, J. and Barboza, N. 2021. First characterization of the probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from Costa Rican pineapple silages. *PeerJ Journal*, DOI 10.7717/peerj.12437: 1-26.
- Wu, P. S., Liu, C. H., and Hu, S. Y. 2021. Probiotic *Bacillus safensis* NPUST1 administration improves growth performance, gut microbiota, and innate immunity against *Streptococcus iniae* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Microorganisms*, 9(249): 2-19.
- Xia, Y., E. Yu, M. Lu & J. Xie. 2020. Effects of probiotic supplementation on gut microbiota as well as metabolite profiles within Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. 527: 735428. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735428>.
- Xie J. J., Liu Q. Q., Liao S., Fang H. H., Yin P., Xie W. S., Tian X. L., Liu J. Y., Niu J. 2019. Effects of dietary mixed probiotics on growth, non-specific immunity, intestinal morphology and microbiota of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 90: 456-465.

- Yamashita, M. M., S. A. Pereira, L. Cardoso, A. P. de Araujo, C. E. Oda, E. C. Schmidt, Z. L. Bouzon, M. L. Martins, and J. L. P. Mouriño. 2017. Probiotic dietary supplementation in Nile tilapia as prophylaxis against Streptococcosis. *Aquaculture Nutrition*. 200: 1-9.
- Yan, F and Polk, D. B. 2002. Probiotic bacterium prevents cytokine- induced apoptosis in intestinal epithelial cells. The action on the decreasing of inflammatory cascade of probiotics and prevention of cell death. *Journal of Biology and Chemically*, 277: 50959-65.
- Yulvizar, C. 2013. Isolasi dan identifikasi bakteri probiotik pada *Rastrelliger sp.* *Biospecies*, 6(2).
- Yusra dan Y. Efendi, 2019. Kemampuan *Bacillus subtilis* VITNJI dari saluran pencernaan ikan dalam memproduksi enzim protease. *Jurnal Riset Akuakultur*. 14(2): 87-93.
- Zapata, A. A. 2013. Antimicrobial activities of lactic acid bacteria strains isolated from Nile tilapia intestine (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Biology and Life Science*, 4(1): 164-171.
- Zayani, M. 2020. Tata kelola fungsi kawasan Danau Maninjau di Kabupaten Agam. *JOM Fisip*, 7(2): 1-15.

DAFTAR GLOSARIUM

- Aerob : adalah organisme yang melakukan metabolisme dengan bantuan oksigen
- Akuakultur : adalah metode untuk melakukan pemeliharaan serta penangkaran berbagai jenis makhluk hidup seperti hewan dan tumbuhan yang hidup di perairan
- Amilase : adalah enzim yang berfungsi memecah karbohidrat menjadi gula (glukosa)
- Anaerob : adalah organisme yang melakukan metabolisme tidak membutuhkan oksigen
- Anaerob fakultatif : adalah bakteri yang masih dapat hidup pada kondisi ada sedikit oksigen
- Bakteri asam laktat : adalah kelompok bakteri gram-positif yang tidak membentuk spora dan dapat memfermentasikan karbohidrat untuk menghasilkan asam laktat
- Bakteri indigenus : adalah bakteri yang secara alami hidup bebas di alam dan memiliki berbagai macam manfaat bagi manusia
- Bioremediasi : adalah penggunaan mikroorganisme untuk mengurangi polutan di lingkungan
- Bakteri gram positif : adalah [bakteri](#) yang mempertahankan [zat warna kristal violet](#) sewaktu proses [pewarnaan Gram](#) sehingga akan berwarna biru atau ungu di bawah [mikroskop](#)
- Bakteri gram negatif : Adalah [bakteri](#) yang tidak mampu mempertahankan [zat warna kristal violet](#) sewaktu proses [pewarnaan Gram](#) sehingga akan berwarna merah bila diamati dengan [mikroskop](#)
- Bakteriosin : adalah senyawa yang bersifat antibakteri, yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri patogen

Bakteri nitrifikasi	:	adalah kelompok bakteri yang mampu menyusun senyawa nitrat dari senyawa amonia yang pada umumnya berlangsung secara aerob di dalam tanah
Biokontrol	:	adalah pemanfaatan makhluk hidup untuk mengendalikan hama dan penyakit hewan air
Bakteri denitrifikasi	:	adalah kelompok bakteri yang memiliki kemampuan untuk melakukan reaksi reduksi senyawa nitrat (NO_3^-) menjadi senyawa nitrogen bebas (N_2)
Bakterisida	:	adalah bahan atau substansi yang dapat membunuh bakteri
Bakteriostatik	:	adalah suatu kondisi yang disebabkan senyawa antibakteri sehingga pertumbuhan dan perkembangan bakteri bersifat tetap (statis)
Daya cerna	:	adalah bagian pakan yang dikonsumsi dan tidak dikeluarkan menjadi feses
Dekomposisi	:	adalah proses di mana bakteri dan jamur memecah organisme mati menjadi senyawa sederhana
Enzim	:	adalah biomolekul berupa protein yang berfungsi sebagai katalis (senyawa yang mempercepat proses reaksi tapi tidak ikut bereaksi) dalam suatu reaksi kimia
Eutrikikasi	:	adalah proses perkembangbiakan tumbuhan air dengan cepat karena memperoleh zat makanan berlimpah akibat pemupukan nutrisi yang berlebihan
Endospora	:	adalah spora bakteri yang berfungsi sebagai alat pertahanan hidup pada kondisi ekstrim dan tidak menguntungkan seperti suhu yang tinggi, kekeringan, adanya senyawa kimia beracun dan saat terjadi radiasi
Endotoksin	:	adalah racun yang terdapat di dalam kuman dan yang baru keluar bila kuman itu rusak
Efisiensi pakan	:	adalah perbandingan antara pertambahan bobot badan yang dihasilkan dengan jumlah pakan yang dikonsumsi

Fermentasi	:	adalah proses terjadinya penguraian senyawa organik untuk menghasilkan energi serta terjadi perubahan substrat
Fagositosis	:	adalah proses penelanan sel atau partikel oleh sel yang lain.
Filogenetik	:	adalah kajian mengenai hubungan di antara kelompok-kelompok organisme yang dikaitkan dengan proses evolusi yang dianggap mendasarinya
In vitro	:	adalah uji berupa kultur sel atau jaringan dilakukan di dalam laboratorium.
In vivo	:	adalah uji dilakukan seluruhnya dalam tubuh makhluk hidup
Inokulum	:	adalah mikroorganisme yang diinokulasikan ke dalam sebuah medium
Isolasi bakteri	:	adalah memisahkan atau memindahkan mikroba tertentu dari lingkungannya di alam dan menumbuhkannya di media buatan
Identifikasi	:	adalah mengenal tentang sesuatu
Identifikasi molekuler	:	adalah salah satu langkah dalam menemukan atau mengenali suatu spesies, salah satu penanda yang paling banyak digunakan pada organisme prokariotik adalah gen 16S rRNA
Imunoglobulin	:	adalah protein yang mempunyai peran vital dalam sistem kekebalan tubuh ini diproduksi sel plasma dan limfosit
Katalase	:	adalah enzim yang mengkatalisis reaksi di mana hidrogen peroksida diurai menjadi air dan oksigen
Leukosit	:	adalah sel darah putih yang berperan melindungi tubuh dari infeksi penyebab penyakit
Lipase	:	adalah enzim yang berfungsi untuk memecah zat lemak dalam makanan agar lebih mudah dicerna dan diserap oleh tubuh

- Lisis : adalah peristiwa pecah atau rusaknya integritas membran sel dan menyebabkan keluarnya organel sel
- Lisozim : adalah [enzim](#) yang memutuskan ikatan β -1,4-glikosida antara [asam N asetil glukosamin](#) dengan [asam N asetil muramat](#) pada [peptidoglikan](#) sehingga dapat merusak [dinding sel bakteri](#)
- Mikroorganisme : adalah organisme yang berukuran sangat kecil sehingga untuk mengamatinya diperlukan alat bantuan
- Omnivora : adalah hewan pemakan segala
- Protease : adalah enzim golongan hidrolase yang akan memecah protein menjadi molekul yang lebih sederhana
- Probiotik : adalah merupakan bakteri yang membawa manfaat bagi kesehatan, khususnya kesehatan saluran pencernaan
- Prebiotik : adalah komponen makanan yang tidak hidup yang dapat memberikan manfaat kesehatan tubuh melalui modulasi mikrobiota
- Pewarnaan gram : adalah pewarnaan yang biasa digunakan dilaboratorium untuk dapat membedakan bakteri gram negatif dan gram positif.
- Sel lisis : adalah pecah atau rusaknya integritas membran sel dan menyebabkan keluarnya organel sel.
- Selulase : adalah nama bagi semua enzim yang memutuskan ikatan glikosidik beta-1,4 di dalam selulosa, sedodekstrin, selobiosa, dan turunan selulosa lainnya

Daftar index

A

Akuakultur	1, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 31
Amoniak	8, 19
Antibiotik	22, 24, 31, 32, 39
Antibakteri	24, 31, 32, 56
Aerob	25, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 67
Anaerob fakultatif	41
Amilase	47

B

Bakteri asam laktat	6, 12, 13, 23, 24, 25, 31, 32, 42, 47, 50
Bakteri indigenous	11
Bakteri patogen	24, 29, 32, 40, 43, 46, 47, 55, 67
Bakteri proteolitik	3, 28, 30, 31, 32, 39, 45, 46, 57
Bakteriosin	3, 14, 24
Bioremediasi	11, 19, 20
Bathing	38
Bakteri hidrolitik	33

D

Denitrifikasi	30
---------------	----

E

Enzim protease	3, 22, 23, 30, 31, 45, 46
Eutrifikasi	2
Endospora	13, 14, 37, 38, 39, 40
Enzimatik	17
Eksplorasi	31

Endotoksin	40
F	
Fitoplankton	2, 19
Fermentasi	5, 6, 13, 41
Filogenetik	44, 45
G	
Gram positif	5, 6, 13, 14, 19, 20, 35, 36, 37, 38, 40
Gram negatif	20, 35, 36, 41
H	
Homofermentatif	14
I	
Identifikasi	31, 31, 32, 33, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 43, 45, 46
Isolasi bakteri	27, 31, 32, 33, 39, 42, 57,
Indigenous	8, 11,
In vitro	57
Immunomodulasi	14
Immunostimulan	17
K	
Karamba Jaring	1, 2
Apung	13, 41
Katalase	
L	
Lipase	17, 22, 31, 47
Lisozim	49
Limfosit	14, 26

Leukosit 48, 49, 53

M

Mesofil 13

Mikroaerofilik 23

Mortalitas 37

N

Nitrat 22, 28

Nitrifikasi 6, 14

Nitrit reduktase 20

P

Pakan 1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 2, 21, 22, 23,
24, 27, 28, 29, 30, 33, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 48,

Probiotik 49, 51, 52, 53,

2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23,
24, 25, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 35, 39, 40, 42, 45, 46, 47, 48, 49,

Patogen 5, 51, 53

Protease

Prebiotik

Paraprobiotik 3, 5, 6, 8, 11, 14, 20, 22, 24, 25, 29, 30, 32, 39, 40, 43, 46, 47,
48

3, 17, 22, 23, 24, 30, 31, 45, 46, 47

29

53

S

Sistem imun 5, 6, 14, 21

Selulase 17, 22

Survival rate 24, 74

Siderophore 24

T

Toksik 49, 23

Termofilik 39