

ABILITY OF ISOLATE PROBIOTIC BACTERIA CANDIDATE FROM KAKAP PUTIH (*Lates calcarifer*) IN PRESSING GROWING OF BACTERI *Vibrio alginolyticus* IN CO-CULTURE

By

Christine M Situmeang¹⁾, Nursyirwani²⁾ and Irwan Effendi²⁾

Email: situmeang.21@yahoo.com

Abstract

Three candidates of probiotic bacteria isolated from kakap putih (*Lates calcarifer*) had been examined for their antagonism against *Vibrio alginolyticus*. However, the ability to suppress the pathogen in co-culture system has not been tested. This research aimed to test the ability of probiotic candidates to suppress the growth of *V. alginolyticus* in co-culture trial. Three probiotics candidates (KP1, KP2, and KP3) were used in this experiment method. Four treatments consisted of P₁ (broth culture of KP1 + *V. alginolyticus*), P₂ (KP2 + *V. alginolyticus*), P₃ (KP3 + *V. alginolyticus*), P₄ (*V. alginolyticus*) as control were prepared in triplicate. Total counts of each probiotic candidate and *V. alginolyticus* was calculated after 48 hours culture incubation. KP1 isolate showed highest ability suppress the growth of *V. alginolyticus*, followed by KP3 and KP2 isolates.

Keywords: *Probiotics, Kakap Putih, Growth, V. alginolyticus, Co-culture.*

¹⁾ Student at Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Riau University.

²⁾ Lecturer at Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Riau University.

PENDAHULUAN

Pengembangan usaha budidaya laut saat ini di Indonesia dan dimasa yang akan datang masih memegang peranan yang sangat penting dalam pengembangan sektor perikanan dan kelautan. Keberhasilan pengembangan usaha budidaya ikan dapat dilihat dari kesehatan ikan, pengendalian parasit ikan dan penyakit ikan. Menurunnya kesehatan ikan sangat rentan terinfeksi oleh bakteri patogen.

Kakap putih (*Lates calcarifer*) merupakan salah satu jenis ikan yang banyak disukai masyarakat dan mempunyai nilai ekonomis yang tinggi. Kakap putih merupakan ikan yang memiliki kandungan protein tinggi dan

kadar lemak yang rendah dan memiliki nilai jual yang tinggi. Ikan kakap putih didominasi oleh tiga komponen utama kandungan gizi antara lain: asam amino, omega 3, omega 6 dan juga vitamin B kompleks dalam jumlah yang cukup besar. Menurut beberapa penelitian ikan kakap putih paling banyak mengandung taurin dan selenium yang berkhasiat sebagai zat antioksidan maupun nutrisi penting buat perkembangan otak manusia terutama bagi anak-anak dalam masa pertumbuhan mereka.

Usaha budidaya ikan kakap putih sering mengalami kerugian yang disebabkan oleh penyakit ikan. Salah satu penyakit yang banyak ditemukan dalam kegiatan budidaya ikan kakap putih adalah *vibriosis*. Penyakit *vibriosis* disebabkan

oleh bakteri *Vibrio* sp. Bakteri ini merupakan bakteri patogen yang dapat memberikan dampak negatif terhadap pertumbuhan ikan kakap putih.

Penyakit oleh bakteri *Vibrio* sp sering ditemukan pada usaha budidaya salah satunya usaha budidaya ikan kakap putih (*Lates calcarifer*). Dampak dari penyakit *vibriosis* dapat berupa terjadi pendarahan pada dinding perut dan permukaan jantung, insang ikan pucat, terjadi pembengkakan pada kulit ikan yang lama kelamaan akan pecah. Irianto (2003) menambahkan bahwa *V. alginolyticus* dapat menyebabkan penyakit mata pada ikan.

Salah satu cara untuk menanggulangi penyakit pada ikan kakap putih adalah dengan penggunaan probiotik, karna probiotik merupakan kumpulan dari Bakteri asam laktat (BAL) yang mampu menekan pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp dan memberikan dampak positif terhadap ikan kakap putih. Pemberian probiotik terhadap usaha budidaya ikan kakap putih merupakan cara yang ampuh untuk memperbaiki kondisi lingkungan budidaya ikan karna tidak menyebabkan resistensi pada organisme patogen (Kordi, 2004).

Probiotik mengandung sejumlah bakteri yang memberikan efek yang menguntungkan kesehatan organisme dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal sehingga dapat memberikan keuntungan perlindungan, proteksi penyakit dan perbaikan daya cerna pada ikan.

Penggunaan probiotik pada akuakultur adalahantisipasi sebagai strategi yang paling baik untuk pencegahan dari infeksi mikroba, mengganti antibiotik dan khemoterapi. Organisme yang umum dipersiapkan dalam probiotik adalah bakteri asam laktat (Zizhong *et al.*, 2009). Salah satu sifat utama untuk seleksi calon probiotik adalah antagonismenya terhadap bakteri patogen, uji antagonisme dapat dilakukan dengan

menggunakan teknik uji ko-kultur. Uji ko-kultur adalah uji yang menumbuhkan bakteri probiotik dan bakteri patogen dalam media dan wadah yang bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri probiotik dalam menekan pertumbuhan bakteri patogen.

Pada penelitian sebelumnya (Afrimansyah, 2015) tiga isolat bakteri asam laktat (BAL) (KP1, KP2 dan KP3) yang menunjukkan kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan dengan uji difusi kertas cakram pada media agar (*disk diffusion*), namun tidak diketahui berapa jumlah bakteri *Vibrio alginolyticus* yang dihambat oleh bakteri probiotik tersebut Oleh karena itu, penulis tertarik untuk melakukan pengamatan dengan metode ko-kultur antara isolat bakteri calon probiotik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat calon probiotik (KP1, KP2 dan KP3) dalam menekan pertumbuhan bakteri secara ko-kultur. Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah isolat bakteri calon probiotik yang mampu menekan pertumbuhan dapat digunakan sebagai suplemen dalam budidaya ikan.

Isolat bakteri calon probiotik dari ikan kakap putih dapat menekan pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan November 2015 sampai Februari 2016. Uji ko-kultur bakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Laut Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau.

Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode eksperimen, dimana tiga isolat bakteri calon probiotik (KP1, KP2 dan KP3) dan bakteri yang dikultur di wadah dan media yang sama dijadikan objek pengamatan dengan teknik

uji ko kultur. Perlakuan diberi tiga kali pengulangan untuk masing masing isolat bakteri yang dikultur. Rancangan percobaan yang diujikan adalah sebagai berikut:

$P_1 = \text{Kultur } KP_1 + V.alginolyticus$

$P_2 = \text{Kultur } KP_2 + V.alginolyticus$

$P_3 = \text{Kultur } KP_3 + V.alginolyticus$

$P_4 = \text{Kultur } V.alginolyticus$ sebagai kontrol

Keterangan:

P : Perlakuan dengan kode (P1, P2, P3, P4)

KP : Isolat bakteri dari ikan kakap putih (*Lates calcarifer*) dengan kode (KP1, KP2 dan KP3)

Uji ko-kultur dilakukan untuk mengamati kemampuan isolat calon probiotik (KP1, KP2, dan KP3) dalam menghambat pertumbuhan dari bakteri secara *in vitro* (Vaseheran dan Ramasamy, 2003).

Data jumlah BAL dan *V. alginolyticus* disajikan dalam bentuk tabel dan grafik, selanjutnya data dibahas secara deskriptif dengan merujuk pada literatur terkait.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan morfologi calon kandidat bakteri probiotik berdasarkan buku identifikasi *Bergey's Manual of Bacteriology* hasilnya didominasi oleh warna putih dan memiliki bentuk dan elevasi yang sama. Ciri-ciri morfologi dan koloni kandidat bakteri probiotik dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Calon Probiotik

Kode	Bentuk	Warna	Diameter (mm)	Elevasi
KP1	Bulat kecil	Putih	0,1 – 0,3	Timbul
KP2	Bulat kecil	Putih	0,1 – 0,3	Timbul
KP3	Bulat kecil	Putih	> 0,5	Timbul

Berdasarkan hasil uji morfologi pada masing-masing isolat, dapat diketahui bahwa bentuk, warna dan elevasi dari semua isolat bakteri calon probiotik adalah sama. Bentuk morfologi dari ketiga isolat calon probiotik bulat kecil, elevasi dari ketiga isolat adalah timbul dan warna ketiga isolat adalah putih.

Hasil Jumlah Bakteri pada Uji Ko-Kultur

Hasil uji ko-kultur antara isolat BAL (KP1, KP2, dan KP3) dengan *V. alginolyticus* menunjukkan adanya perbedaan setiap perlakuan (Tabel 2, 3, dan 4)

Tabel 2. Hasil Uji Ko Kultur KP1 + *V. alginolyticus*

Pengulangan	KP1 (cfu/ml)	<i>V. alginolyticus</i> (cfu/ml)
1	$8,7 \times 10^6$	< 30
2	$7,2 \times 10^6$	< 30
3	$9,0 \times 10^7$	< 30
Kontrol	-	$4,1 \times 10^8$

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat hasil uji ko-kultur antara KP1 + *V. alginolyticus* didapatkan hasil KP1 dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*. Dari tiga kali pengulangan isolat *V. alginolyticus* selalu mengalami penurunan berbanding terbalik dengan kultur kontrol *V. alginolyticus* yang menunjukkan pertumbuhan optimal.

Tabel 3. Hasil Uji Ko-Kultur KP2 + *V. alginolyticus*

Pengulangan	KP2 (cfu/ml)	<i>V. alginolyticus</i> (cfu/ml)
1	< 30	< 30
2	< 30	5,9 x 10 ⁶
3	< 30	< 30
Kontrol	-	4,1 x 10 ⁸

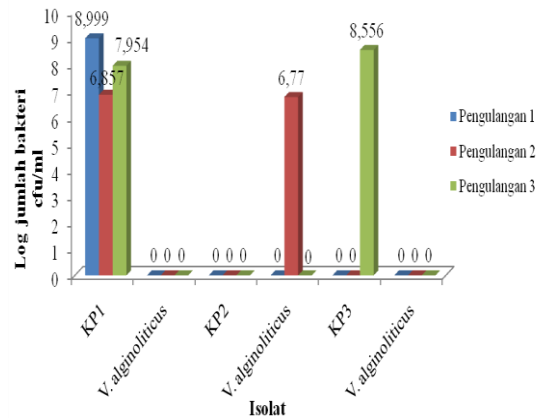
Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat hasil uji ko- kultur antara KP2 + *V. alginolyticus* didapatkan hasil KP2 memiliki kemampuan yang rendah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* terlihat dari tiga kali pengulangan bahwa KP2 selalu mengalami penurunan jumlah koloni dari konsentrasi awal.

Tabel 4. Hasil Uji Ko Kultur KP3 + *V. alginolyticus*

Pengulangan	KP3 (cfu/ml)	<i>V. alginolyticus</i> (cfu/ml)
1	< 30	< 30
2	< 30	< 30
3	3,6 x 10 ⁸	< 30
Kontrol	-	4,1 x 10 ⁸

Berdasarkan Tabel 4 dapat dilihat hasil uji ko-kultur antara KP3 + *V. alginolyticus* didapatkan hasil KP3 dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*. Berbanding terbalik apabila dibandingkan dengan kontrol *V. alginolyticus* yang mengalami pertumbuhan optimal.

Masing-masing isolat memiliki kemampuan berbeda dalam menekan pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* pada uji ko-kultur, kemampuan ketiga isolat dalam menekan pertumbuhan *V. alginolyticus* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram Hasil Ko-kultur Kp + *Vibrio alginolyticus*

Pada Gambar 1 diatas dapat dilihat bahwa isolat KP1 merupakan isolat yang paling tinggi menekan pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* sedangkan yang memiliki kemampuan sedang dalam menekan pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* adalah isolat KP3 dan KP2 memiliki kemampuan yang rendah dalam menekan pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*.

Morfologi Koloni Bakteri Calon Probiotik

Hasil identifikasi morfologi koloni bakteri calon probiotik (KP1, KP2, dan KP3) didapatkan bahwa dari ketiga isolat ini memiliki bentuk, warna dan elavasi yang sama. Hal ini disebabkan karena ketiga isolat ini berasal dari genus *Lactobacillus*. KP1 dan KP2 memiliki ukuran yang sama yaitu > 0,5 mm dan KP3 memiliki ukuran 0,1-0,3 mm. Menurut penelitian sebelumnya Nursyirwani *et al.* (2015) KP1 memiliki kemiripan dengan *Lactobacillus plantarum* 88%, KP2 memiliki kemiripan dengan *Lactobacillus plantarum* sebesar 70%, dan KP3 memiliki kemiripan dengan *Lactobacillus paracasei* sebesar 80%.

Hal tersebut hampir sama dengan yang dilakukan pada penelitian yang sebelumnya yang dilakukan oleh (Ilmiah *et al.*, 2012) menjelaskan penampilan koloni

isolat kandidat probiotik memiliki variasi warna koloni terdiri dari krem, putih, putih susu, putih transparan, putih kekuningan dan kuning. Ukuran dan bentuk koloninya juga bermacam-macam ada yang Bulat besar dan Bulat kecil.

Menurut Hidayat *et al.* (2006) bentuk koloni dari suatu bakteri dipengaruhi oleh umur dan syarat pertumbuhan tertentu. Variasi bentuk bakteri yang terjadi juga dipengaruhi oleh lingkungan (faktor biotik dan abiotik), faktor makanan (medium tumbuh) dan suhu.

Jumlah Bakteri pada Uji Ko-Kultur

Hasil yang didapatkan pada uji ko-kultur menunjukkan bahwa KP1 dapat menekan pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*, KP2 memiliki kemampuan yang rendah dalam menekan pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*, dan KP3 memiliki kemampuan sedang dalam menekan pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*.

Perlakuan pertama adalah KP1 + *V. alginolyticus* dan didapatkan hasilnya bahwa KP1 memiliki kemampuan sangat tinggi dalam menekan pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*, dikarenakan isolat bakteri ini memiliki kemiripan dengan bakteri spesies asam laktat *Lactobacillus plantarum* sebanyak 88% bakteri spesies ini memiliki kemampuan untuk menghasilkan bakteriosin (Suriawira, 1983). Kemampuan bakteriosin dalam melakukan aktivitasnya sebagai biopresevatif dicapai oleh efek penghambatannya terhadap mikroorganisme patogen yang berbahaya (Savadogo *et al.*, 2004). Sensitifitas bakteri Gram negatif oleh aktivitas antimikroba bakteriosin lebih tinggi dibandingkan dengan Gram positif, karena struktur dinding selnya memiliki membran luar yang tersusun atas lipopolisakarida (LPS), lipoprotein, dan fosfolipid (Leroy, 2007)

Selain itu bakteri dengan genus ini mampu menghasilkan H_2O_2 akibat adanya oksigen yang berfungsi sebagai antibakteri yang dapat menyebabkan adanya daya hambat terhadap pertumbuhan mikroorganisme lain. Berdasarkan penelitian Buckle (1985) *L. plantarum* merupakan penghasil hidrogen peroksida tertinggi di antara bakteri asam laktat lainnya. Bakteri asam laktat memproduksi hidrogen peroksida dibawah kondisi pertumbuhan aerob. Bakteri asam laktat mengekskresikan H_2O_2 tersebut sebagai alat pelindung diri yang mampu bersifat bakteriostatik maupun bakterisidal. Hidrogen peroksida merupakan salah satu agen pengoksidasi yang kuat dan dapat dijadikan sebagai zat antimikroba melawan bakteri, fungi dan bahkan virus (Ray *et al.*, 2004). Pada kondisi tertentu, spora bakteri ditemukan paling resisten terhadap H_2O_2 , diikuti dengan bakteri Gram positif. Bakteri yang paling sensitif terhadap H_2O_2 adalah bakteri Gram negatif, terutama koliform (Ouweland dan Vesterlund, 2004).

Menurut Jenie dan Rini (1995), *L. plantarum* mempunyai kemampuan untuk menghambat mikroorganisme patogen pada bahan pangan dengan daerah penghambatan terbesar dibandingkan dengan bakteri asam laktat yang lainnya, kelompok bakteri asam laktat *Lactobacillus* melakukan proses biokimia yang hasil akhirnya mendapatkan asam laktat dan pH yang rendah. Hal ini didukung oleh pendapat Buckle *et al.* (1985) *L. plantarum* mampu merombak senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan hasil akhirnya yaitu asam laktat, asam laktat dapat menghasilkan pH yang rendah pada substrat sehingga menimbulkan suasana asam. Dalam keadaan asam *L. plantarum* memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri patogen dan bakteri pembusuk (Delgado *et al.*, 2001).

Nilai pH yang rendah mampu menghambat kontaminasi mikroorganisme

pembusuk, mikroorganisme patogen serta mikroorganisme penghasil racun akan mati (Usmiati *et al.*, 2007). Bakteri *L. plantarum* memiliki kemampuan hidup di pH rendah dan semakin lama juga bakteri *L. plantarum* mampu mengurangi nilai pH 4,5-3 media kultur (TSB) sehingga mengurangi kepadatan dari bakteri *V. alginolyticus* yang tidak memiliki kemampuan hidup di pH rendah. pH hidup bakteri *V. alginolyticus* 6,5-8,5 (Bauman *et al.*, 1984 dalam Herawati, 1996). Hal tersebut yang menjadi faktor yang menyebabkan KP1 menang saat melawan bakteri .

Perlakuan kedua adalah Isolat KP2 dikultur dengan *V. alginolyticus* dan didapatkan hasilnya isolat KP2 memiliki kemampuan yang sedang dalam menekan pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*. Apabila dibandingkan dengan kontrol KP2 yang menunjukkan pertumbuhan yang optimal, Isolat KP2 memiliki kemiripan dengan spesies *L. Plantarum* hanya saja kemiripan persentasenya adalah 70%. Dari hasil ini dapat dikatakan bahwa isolat KP2 ini memiliki peluang juga untuk memiliki kemiripan dengan spesies lain.

Perlakuan ketiga adalah isolat KP3 dikultur dengan *V. alginolyticus* dan didapatkan hasilnya bahwa KP3 memiliki kemampuan untuk menekan pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*. Isolat KP3 memiliki kemiripan dengan *Lactobacillus paracasei* dengan persentase adalah 78%. Isolat KP3 ini mampu menekan pertumbuhan karna bakteri *L. paracasei* dapat memecah protein, karbohidrat dan lemak dalam makanan dan menolong penyerapan elemen penting dan nutrisi seperti mineral, asam amino dan vitamin yang dibutuhkan manusia dan hewan untuk bertahan hidup (Damika, 2006). Bakteri *L. paracasei* memiliki kemampuan untuk menurunkan pH media semakin ilama proses inkubasi maka semakin menurun nilai pH. Bakteri *Lactobacillus* sp. mampu memberikan efek pertumbuhan yang baik pada ikan karena mengurangi

level kortisol (Carnevali *et al.*, 2006). Kortisol diketahui memberi efek negatif terhadap pertumbuhan karena menguraangi re-absorpsi makanan, pencernaan protein dan efisiensi konversi makanan (Barton, 2002). Hal tersebut yang menjadi faktor isolat KP3 mampu menekan pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*.

Penelitian ini serupa dengan hasil uji ko-kultur pada penelitian terdahulu Hjelm *et al.* (2004) mendapatkan pengurangan jumlah *V. anguillarum* 90-11-287 dan *V. splendidus* (konsentrasi awal 10^2 - 10^3 CFU/ml) Setelah penambahan *Roseobacter* 27-4 (konsentrasi awal 10^6 - 10^7 CFU/ml). Hai *et al.* (2007) mendapatkan densitas sel vibrio sp. tidak melebihi level inokulasi awalnya (10^3 CFU/ml) dengan penambahan probiotik B (*Pseudomonas synxantha*) dan probiotik C (*P. aeruginosa*) pada inokulasi awal 10^3 , 10^5 dan 10^7 CFU/ml. Densitas sel kedua probiotik tersebut meningkat signifikan pada masa inkubasi 24, 48 dan 72 jam. Berdasarkan hasil penemuan-penemuan tersebut dapat disimpulkan bahwa jumlah patogen dapat dikontrol secara *in vitro* apabila konsentrasi probiotik meningkat. Hasil peneletian Nursyirwani (2013) mendapatkan pengurangan jumlah *V. alginolyticus* (inokulasi awal 10^3 sel/ml) pada uji ko-kultur dengan konsentrasi awal BAL 10^3 , 10^5 dan 10^7 sel/ml selama 120 jam.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan masing-masing isolat memiliki kemampuan berbeda yaitu KP1 dapat menekan pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* dengan sangat baik, isolat KP2 tidak mampu untuk memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* sedangkan isolat KP3 mampu menekan pertumbuhan dari bakteri *V. alginolyticus*. Isolat terbaik dari hasil penelitian ini yaitu isolat KP1 karena isolat

ini merupakan isolat yang paling banyak menekan pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*. Diharapkan dari hasil penelitian ini bisa dilanjutkan untuk melakukan penelitian dengan isolat calon probiotik (KP1, KP2 dan KP3) dan diujikan dengan bakteri patogen spesies berbeda. Untuk penelitian lebih lanjut isolat bakteri yang mampu menekan pertumbuhan bakteri dapat dijadikan probiotik dan dapat diaplikasikan dalam pengendalian penyakit ikan budidaya yang disebabkan oleh bakteri patogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Barton, B. A., 2002. Stress in Fishes: a Diversity of Responses With Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids. *Integrative and comparative biology*.
- Buckle, K. A., R. A. Edwards, G. H. Fleet dan M. Wootton. 1985. Ilmu Pangan. UI-press, Jakarta.
- Carnevali, O., L. De Vivo, R. Sulpizio, G. Gioacchini, I. Olivotto, S. Silvi and A. Cresci. 2006. Growth Improvement by Probiotic in European Sea Bass Juveniles (*Dicentrarchus labrax*, L.) With Particular Attention to IGF-1, myostatin and cortisol gene expression. *Aquaculture*, 258: 430-438.
- Damika. 2006. Karakteristik *Lactobacillus casei*. <http://bioteknologipangan.blogspot.com/karakteristik-lactobacillus-casei.html>. diakses tanggal 20 april 2016.
- Delgado, A., D. Brito, P. Fevereiro, C. Peres, and J. F. Marques. 2001. Antimicrobial Activity of *L. plantarum*, Isolated from a Traditional Lactic Acid Fermentation of Table Olives. *INRA, EDP Science* 81 (1): 203-215
- Hai, N.V., R. Fotedar and N. Buller. 2007. Selection of Probiotics by Various Inhibition Test Methods For Use in The Culture of Western King Prawns, *Penaeus latisulcatus* (Kishinouye). *Aquaculture*, 272:231-239.
- Herawati, E. 1996. Karakteristik Fisiologi dan Genetik *Vibrio* Berpandar Sebagai Penyebab Penyakit Udang Windu. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hidayat.N.M.C.Padaga dan S. Suhartini, 2006. Mikrobiologi Industri. Andi, Yogyakarta.
- Hjlem, H., O. Bergh, A. Riaza, J. Nielsen, J. Melchiorson, S. Jensen, H. Duncan, P. Ahrens, H. Birkbeck and L. Gram. 2004. Selection Identification of Autochthonous Potential Probiotic Bacteria from Turbot Larvae (*Scophthalmus maximus*) Rearing Units. *Systematic and Applied Microbiology*, 27:360-371.
- Ilmiah, Sukenda, Widanarni, Haris. E. 2012. Seleksi bakteri probiotik dari terumbu karang dan lingkungan budidaya ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Jurnal Akuakultur Indonesia* 11(2), Bogor. hal 109–117.
- Jenie. S. L., Rini S.E. 1995. Aktivitas Antimicroba dari beberapa Spesies *Lactobacillus* terhadap mikroba patogen dan perusak makanan. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*, (7).2. 46-51.
- Leroy, L. D. V. F. 2007. Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Production, Purification, and Food Applications, *J Microbiol biotechnol*. 13:194-199.

- Nursyirwani. 2013. Seleksi dan karakterisasi bakteri asam laktat (BAL) untuk penanggulangan penyakit vibriosis pada ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Disertasi* program pascasarjana fakultas kedokteran hewan . Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Nursyirwani, Feliatra, Samiaji, J. 2015. Skrining bakteri probiotik untuk pengendalian penyakit bacterial pada budidaya perikanan di Provinsi Riau. Laporan akhir penelitian Fundamental. Pekanbaru : Universitas Riau.
- Ouwehand, A. C., Vesterlund, S.2004. *Antimicrobial Components From Lactic Acid Bacteria. In Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, ed. Salminen, S.A., Von wright,a., ouwehand, A.C. Marceldekker, New york: 375-395.*
- Ray B. and A. Bhunia. 2004. *Fundamental Food Microbiology. 3rdEd. Florida. CRC press. London. New york.*
- Savadago, A., C. A. T. Quattara, I. H. N. Bassole, and A. S. Traore. 2004. Antimicrobial Activities of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated From Burkina Baso Fermented Milk. *Pakistan journal of nutrition* 3 (3):174-179.
- Suriawiria. U. 1983. Pengaweta Ikan secara Biologis dan Peranan Bakteri Asam Laktat di dalam Laboratorium Mikrobiologi ITB. Bandung.
- Usmiati, S., dan Marwati, T. 2007. Seleksi dan Optimasi Proses dan Produksi Bakteriosin Dari *Lactobacillus* sp *Jurnal Pascapanen* 4. 27-37.