

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PROBIOTIK PADA SALURAN PENCERNAAN IKAN LAIS (*Kryptopterus* spp.)

Mustaqim, Rodesia M Roza, Bernadeta Leni F.

**Mahasiswa Program S1 Biologi
Bidang Mikrobiologi Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Kampus Bina Widya Pekanbaru, 28293, Indonesia
*mustaqimmust@gmail.com***

ABSTRACT

Riau is one of provinces that has high diversity of lais fish. Lais fish is one of income sources for Riau community. Probiotics are "good" bacteria that are unintentionally consumed alive until they reach an intestinal tract. Probiotics can also produce bacteriocins that have been known usefull against pathogens that are specific to some pathogen strains. The aims of this study were to isolate and characterize the probiotic bacteria found in the digestive tract of lais fish (*Kryptopterus* spp.). This study was conducted from November 2013 to January 2014 at the Microbiology Laboratory, Biology Departement University of Riau, Pekanbaru. The results of this study obtained 16 isolates of probiotic bacteria with all of the isolates belong to gram-positive bacteria with rod and circular shape. All of the isolates were non-motile, negative catalase, positive oksidase, the metil red test showed negative and positive result and the fisiological test showed that all of isolates were able to grow at the temperature of 25-37°C. All of the characterized isolates were grouped into *Lactobacillus* genus.

Keywords: *Kryptopterus* spp., *Lactobacillus*, *Probiotics*

ABSTRAK

Riau merupakan salah satu propinsi yang memiliki keragaman ikan lais yang cukup tinggi. Ikan lais merupakan sumber penghasilan bagi penduduk Riau. Probiotik merupakan bakteri "baik" yang dikonsumsi dalam keadaan hidup hingga mencapai saluran usus. Probiotik juga bisa menghasilkan bakteriosin yang telah diketahui manfaatnya untuk melawan patogen yang bersifat spesifik terhadap beberapa strain patogen. Tujuan penelitian ini untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri probiotik yang terdapat pada saluran pencernaan ikan lais (*Kryptopterus* spp.). Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2013-Januari 2014 di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Universitas Riau, Pekanbaru. Hasil penelitian ini diperoleh 16 isolat bakteri probiotik dengan seluruh isolat merupakan bakteri gram positif berbentuk batang dan bulat, berdasarkan uji biokimia, seluruh isolat bersifat non motil, katalase negatif, oksidase positif, untuk uji metil red terdapat hasil negatif dan positif dan untuk uji fisiologis seluruh isolat mampu tumbuh pada suhu 25-37°C. Semua isolat yang dikarakterisasi termasuk ke dalam golongan genus *Lactobacillus*.

Kata kunci: Bakteri probiotik, *Kryptopterus* spp., *Lactobacillus*

PENDAHULUAN

Ikan lais merupakan salah satu jenis ikan yang berpotensi sebagai ikan yang memiliki harga ekonomis yang tinggi di daerah Riau, hal ini dikarenakan adanya sungai-sungai paparan banjir yang merupakan habitat khas dari ikan lais yang ditandai dengan warna perairan cokelat tua serta pH yang lebih relatif rendah dibandingkan dengan sungai-sungai lainnya. Biasanya ikan lais hidup di perairan dengan kisaran pH rata-rata 5,5-6,0 tergantung spesies dari ikan lais tersebut (Elvyra & Yus, 2012).

Probiotik merupakan bakteri “baik” yang dikonsumsi dalam keadaan hidup hingga mencapai saluran usus. Probiotik membutuhkan ketegaran hingga sampai ke usus seperti melewati mulut dengan bantuan lisosim yang dikeluarkan dari air liurnya (Waspodo, 2001).

Bakteri probiotik sangat menguntungkan bagi pencernaan ikan, dimana bakteri probiotik ini dapat meningkatkan daya cerna dalam tubuh ikan yang berguna untuk meningkatkan efisiensi pakan. Peranan lain yang dimiliki yaitu mengontrol bakteri yang tidak diinginkan seperti bakteri patogen yang dapat mengganggu bahkan menjadi sumber penyakit pada masa pembenihan dan bisa juga menyebabkan kematian massal pada sejumlah besar populasi larva udang. Bakteri probiotik ini juga memberikan keuntungan untuk kesehatan tubuh makhluk hidup dengan meningkatkan pertumbuhan, produksi susu dan telur serta meningkatkan sistem imun yang sangat berguna untuk sistem kekebalan tubuh (Zulkifli, 2001).

Riau dengan kondisi geografisnya memiliki beberapa sungai yang dikenal secara nasional maupun

internasional, contohnya Sungai Siak yang merupakan sumber penghasilan penduduk setempat memiliki produktivitas ikan lais yang cukup tinggi. Berdasarkan hal tersebut menimbulkan ketertarikan untuk mengetahui karakteristik dari ikan lais tersebut meliputi bakteri probiotik yang terdapat pada saluran pencernaan (lambung dan usus) ikan lais sehingga nantinya diketahui jenis-jenis bakteri probiotik yang berperan pada saluran pencernaan ikan lais.

METODE PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, gelas ukur, jarum ose, pipet tetes, erlenmeyer, mikroskop, inkubator, *autoclave*, *cover glass*, *object glass*, timbangan, lampu bunsen, aluminium foil, kapas, gelas beaker.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan lais (*Kryptopterus* spp.). Bahan yang digunakan adalah: Medium MRS (*deMann Rogosa Sharpe*) agar, asam sitrat, larutan kristal violet, safranin, iodine, *immersion oil*, hidrogen peroksida 3% (H_2O_2), tetrametyl-p-phenylendiamin 1% , alkohol, aquades, spiritus, NaCl, MR-VP (metil red voges proskeur) broth, reagen metil red, larutan garam fisiologis NaCl 0,9%, methylene blue, larutan naptol, indikator metil red.

b. Isolasi Bakteri Probiotik

Bakteri probiotik diisolasi dari organ pencernaan yaitu lambung dan usus ikan lais segar. Ikan dibedah untuk

diambil bagian lambung dan usus, lalu dimasukkan kedalam larutan fisiologis NaCl 0,9 % pada pH 2, untuk menurunkan pH digunakan asam sitrat (Feliatra *et al.*, 2004). Selanjutnya lambung dan usus dihancurkan atau dihaluskan dengan menggunakan mortar porselen.

Sampel yang telah dihaluskan, kemudian dilakukan seri pengenceran. Metode seri pengenceran yang dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 g sampel, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml akuades sehingga didapat pengenceran 10^{-1} , lakukan hingga pengenceran 10^{-5} , kemudian diinkubasi dengan posisi cawan terbalik selama 24-48 jam pada suhu ruang.

c. Karakterisasi Bakteri Probiotik

Prosedur karakterisasi bakteri probiotik dilakukan secara makrokopis dan mikrokopis seperti morfologi koloni meliputi: bentuk, elevasi, tepian warna dan ukuran koloni, morfologi sel meliputi: bentuk sel dan warna sel. Selain itu dilakukan uji biokimia meliputi: uji gram, uji katalase, uji oksidase, uji motilitas dan uji metil red, serta dilakukannya uji fisiologis meliputi uji kemampuan tumbuh pada suhu berbeda yaitu pada suhu $0-5^{\circ}\text{C}$, $15-20^{\circ}\text{C}$ dan $25-37^{\circ}\text{C}$. Identifikasi berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (1994).

d. Uji Biokimia

1. Uji Gram (Pewarnaan)

Pewarnaan terhadap sel bakteri berdasarkan metode Hucker yaitu sel bakteri yang berumur 24-48 jam pada media MRSA dioleskan setipis mungkin pada preparat dan dikeringkan dengan

cara kering anginkan serta memanaskan bagian belakang kaca preparat tersebut dengan lampu bunsen. Selanjutnya teteskan kristal violet sebagai pewarna utama dan tunggu selama 1 menit, lalu cuci dengan akuades mengalir. Kemudian preparat bilas dengan iodine biarkan 30 detik, lalu dibilas dengan aquades. Etil alkohol 95 % ditetaskan pada preparat dan digoyang-goyang selama 15 detik, lalu dibilas dengan aquades, setelah itu preparat ditambah dengan safranin, didiamkan selama 30 detik, selanjutnya dibilas dengan aquades, dikeringanginkan dan diamati dibawah mikroskop. Bakteri gram positif berwarna ungu atau violet sedangkan gram negatif berwarna merah jambu atau kemerah-merahan.

2. Uji Katalase

Untuk menentukan adanya katalase diuji dengan menggunakan larutan hidrogen peroksida 3 % (H_2O_2) pada koloni terpisah. Kemudian 1 tetes larutan H_2O_2 ditetaskan diatas permukaan koloni. Pada bakteri yang bersifat katalase positif terlihat adanya pembentukan gelembung gas di sekitar koloni dan jika gas tidak terbentuk katalase berarti katalase negatif.

3. Uji Oksidase

Uji oksidase dilakukan pada koloni bakteri dengan cara koloni ditetesi 3 tetes larutan naptol kemudian ditetesi 3 tetes larutan 1,4-phenyldiamin. Reaksi bersifat oksidasi positif jika warna koloni berubah dalam waktu dua menit menjadi warna hitam.

4. Uji Motilitas

Penelitian motilitas diuji dengan pengambilan sampel bakteri berumur 24-48 jam dan dioleskan pada objek

glass, selanjutnya ditetesi dengan akuades steril dan ditutup dengan *cover glass* serta diamati di bawah mikroskop. Pergerakan bakteri akan terlihat arah dan kecepatannya yang berbeda dengan partikel air.

5. Uji Metil Red

Bakteri yang tumbuh pada media agar diinokulasi kedalam tabung reaksi yang berisi dengan media MR-VP kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24-48 jam. Langkah selanjutnya ditambahkan 5 tetes indikator metil red pada tabung. Uji positif jika tabung berwarna merah yang berarti asam dan uji negatif jika tabung berwarna kuning dan memproduksi basa.

e. Uji Fisiologis

Kemampuan Tumbuh pada Suhu Berbeda

Kemampuan tumbuh masing-masing isolat pada beberapa suhu diuji

dengan menumbuhkan isolat bakteri pada media *MRS Broth* dan diinkubasi pada temperatur 0-5 °C, 15-20 °C, dan 25-37 °C selama 24-48 jam dan diamati pertumbuhan bakteri pada masing-masing tabung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Isolasi dan Purifikasi Bakteri Probiotik

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap bakteri yang terdapat pada saluran pencernaan (usus dan lambung) ikan lais, maka diperoleh sebanyak 16 isolat yang berpotensi sebagai bakteri probiotik yang diisolasi pada medium MRSA. Pada tabel 1 memperlihatkan jumlah isolat yang diperoleh yaitu sebanyak 16 isolat, masing-masing isolat bakteri probiotik diberi kode ULI 1, ULI 2, ULI 3, ULI 4, ULI 5, ULI 6, ULI 7, ULI 8, ULI 9, ULI 10, ULI 11, ULI 12, ULI 13, ULI 14, ULI 15, ULI 16.

Tabel 1: Jumlah Jenis Isolat Bakteri Probiotik pada Saluran Pencernaan Ikan Lais

No.	Sampel	Isolat	Kode Isolat
1	Sampel 1	3 Isolat	ULI 1, ULI 2, ULI 3
2	Sampel 2	5 Isolat	ULI 4, ULI 5, ULI 6, ULI 7, ULI 8
3	Sampel 3	8 Isolat	ULI 9, ULI 10, ULI 11, ULI 12, ULI 13, ULI 14, ULI 15, ULI 16

Keterangan Kode Isolat: U=Usus, L=Lambung, I=Ikan

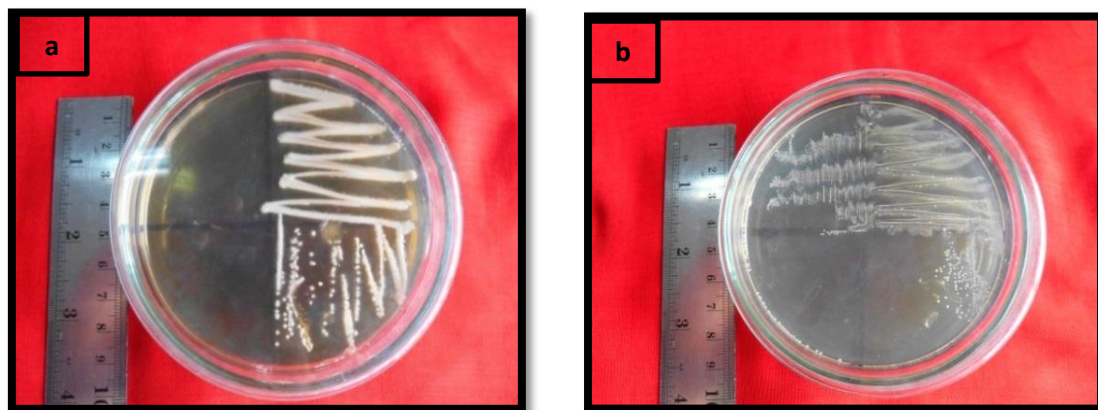
Pada masing-masing ikan lais terdapat bakteri probiotik yang menguntungkan bagi ikan lais tersebut, hal ini dikarenakan adanya hubungan simbiosis yang saling menguntungkan antara bakteri probiotik dan ikan lais yang terjadi di dalam saluran pencernaan ikan lais tersebut (Feliatra, 2002). Hasil dari penelitian ini terdapat perbedaan jumlah bakteri probiotik antara satu sampel dengan sampel lainnya, hal ini dipengaruhi oleh adanya faktor usia pada ikan seperti yang telah dikemukakan oleh Waspodo (2001) populasi bakteri probiotik disepanjang saluran pencernaan akan semakin kompleks baik jenis maupun jumlahnya seiring pertambahan usia ikan tersebut.

b. Karakter Morfologi Koloni Isolat Bakteri Probiotik pada Saluran Pencernaan Ikan Lais

Hasil pengamatan pada warna koloni isolat bakteri probiotik terdapat dua warna yang berbeda yaitu putih susu yang dapat terlihat pada isolat ULI

1, ULI 2, ULI 3, ULI 4, ULI 5, ULI 7, ULI 8, ULI 9, ULI 10, ULI 11, ULI 13, dan ULI 16. Warna krem dapat terlihat pada isolat ULI 6, ULI 12, ULI 14, dan ULI 15. Tepian koloni isolat pada seluruh isolat sama yaitu licin, ukuran koloni dari masing-masing isolat terdiri atas ukuran koloni kecil yang terdapat pada isolat ULI 1, ULI 2, ULI 3, ULI 4, ULI 6, dan ULI 7. Ukuran koloni sedang dapat terlihat pada isolat ULI 5, ULI 8, ULI 9, ULI 10, ULI 11, ULI 12, ULI 13, ULI 14, ULI 15, dan ULI 16, bentuk dari koloni seluruh isolat yaitu bundar, sedangkan untuk elevasi koloni untuk semua isolat sama yaitu cembung.

Hasil dari karakter morfologi koloni pada penelitian ini tidak berbeda jauh dari hasil penelitian Yulfizar (2012) yang mengisolasi bakteri probiotik dari ikan kembung (*Restrelliger* sp) dan memperoleh empat warna koloni yang berbeda yaitu kemerahan, krem, putih susu dan kuning.



Gambar 1. Morfologi Koloni Bakteri Probiotik Saluran Pencernaan Ikan lais pada Medium MRSA (a) Kultur Murni Berwarna Putih Susu pada Isolat ULI1, (b) Kultur Murni Berwarna Krem pada Isolat ULI6.

c. Karakter Morfologi Sel Isolat Bakteri Probiotik pada Saluran Pencernaan (usus dan lambung) Ikan Lais

Pada Tabel 2 menunjukkan hasil dari pengamatan morfologi koloni dan morfologi sel bakteri probiotik pada saluran pencernaan ikan lais. Pada penelitian isolasi bakteri probiotik dari saluran pencernaan ikan lais memperoleh isolat berbentuk batang, bulat serta bersifat tidak motil dan berwarna ungu (bakteri gram positif).

Karakter morfologi sel bakteri probiotik yang diperoleh sesuai dengan penelitian Feliatra *et al.* (2004). Bakteri probiotik yang tergolong *Lactobacillus* merupakan bakteri gram positif (Holt *et al.*, 1994).

Bakteri gram positif memiliki dinding sel yang tebal dan membran sel selapis sehingga pada saat bakteri mengalami dehidrasi dengan pemberian alkohol 96% pori-porinya akan mengkerut yang menyebabkan warna utama (kristal violet) tidak bisa keluar.

Tabel 2: Pengamatan Morfologi Koloni dan Morfologi Sel Bakteri Probiotik pada Saluran Pencernaan Ikan Lais

Isolat Bakteri	Morfologi Koloni		Morfologi Sel
	Warna	Ukuran	Bentuk
ULI 1	Putih Susu	Kecil	Batang
ULI 2	Putih Susu	Kecil	Bulat
ULI 3	Putih Susu	Kecil	Bulat
ULI 4	Putih Susu	Kecil	Batang
ULI 5	Putih Susu	Sedang	Bulat
ULI 6	Krem	Kecil	Bulat
ULI 7	Putih Susu	Kecil	Bulat
ULI 8	Putih Susu	Sedang	Bulat
ULI 9	Putih Susu	Sedang	Batang
ULI 10	Putih Susu	Sedang	Batang
ULI 11	Putih Susu	Sedang	Batang
ULI 12	Krem	Sedang	Batang
ULI 13	Putih Susu	Sedang	Batang
ULI 14	Krem	Sedang	Batang
ULI 15	Krem	Sedang	Batang
ULI 16	Putih Susu	Sedang	Batang

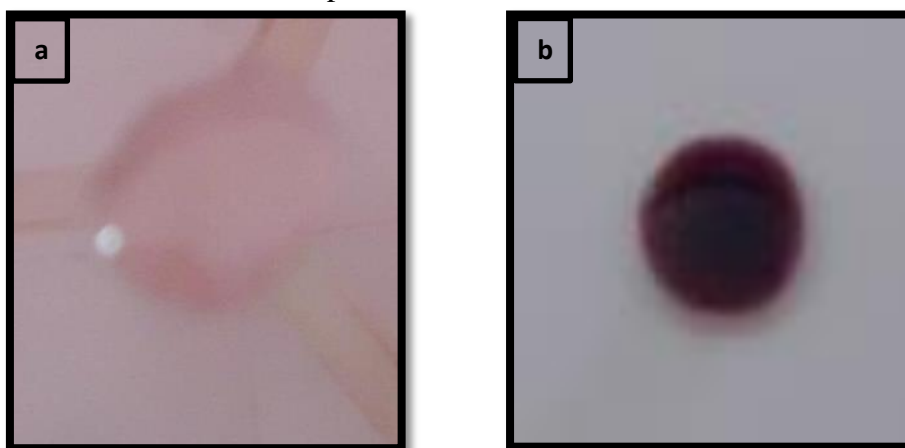
d. Analisis Biokimia dan Fisiologi Bakteri Probiotik

Hasil uji katalase isolat bakteri probiotik yang diperoleh menunjukkan hasil negatif terhadap katalase karena tidak menghasilkan gelembung gas disekitar koloni bakteri ketika ditetaskan larutan H_2O_2 3% (hidrogen peroksida) seperti yang terlihat pada Gambar 2 (a).

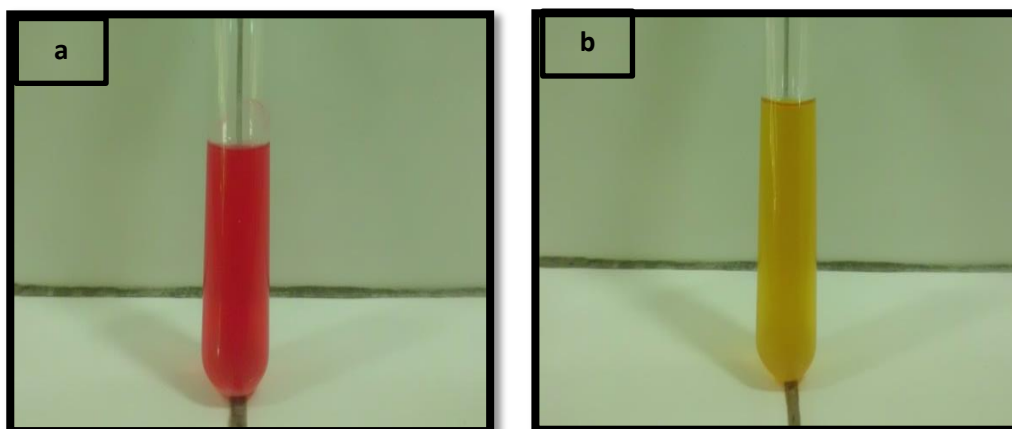
Pada pengamatan uji oksidase semua isolat bakteri probiotik bereaksi positif terhadap oksidase karena tidak ada perubahan warna koloni menjadi merah apabila ditetaskan larutan naptol dan larutan 1,4-phenyldiamin seperti yang terlihat pada Gambar 2 (b). Uji oksidase bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya enzim oksidase pada bakteri.

Hasil dari uji motilitas untuk semua isolat bakteri probiotik adalah tidak motil, hal ini dapat terlihat dari tidak adanya pergerakan bakteri probiotik apabila diamati dibawah mikroskop. Menurut Surono (2004) bakteri probiotik memiliki kemampuan

biosintesis yang sangat terbatas, sehingga bersifat non motil. Perolehan energinya semata-mata hanya bergantung pada metabolisme secara fermentatif yang dilakukan pada tempatnya. Hasil negatif pada uji motilitas menunjukkan bahwa bakteri uji tidak memiliki flagella sebagai alat pergerakan. Hasil uji metil red untuk semua bakteri probiotik berbeda antara satu sama lain yaitu pada isolat ULI 1 dan ULI 6 bereaksi positif ditunjukkan dengan berubahnya medium MR-VP menjadi merah sedangkan untuk isolat ULI 2 ULI 3, ULI 4, ULI 5, ULI 7, ULI 8, ULI 9, ULI 10, ULI 11, ULI 12, ULI 13, ULI 14, ULI 15, dan ULI 16 bereaksi negatif yang menunjukkan tidak ada perubahan warna menjadi merah pada medium MR-VP. Uji metil red sendiri digunakan untuk menentukan adanya produk asam campuran dari fermentasi glukosa melalui jalur fermentasi asam campuran yang umumnya berupa asam laktat, asam asetat, asam format, dan asam suksinat.



Gambar 2. Pengamatan pada Uji Katalase dan Uji Oksidase Isolat Bakteri Probiotik, (a) Reaksi Negatif pada Uji Katalase Isolat ULI1, (b) Reaksi Positif pada Uji Oksidase Isolat ULI13.

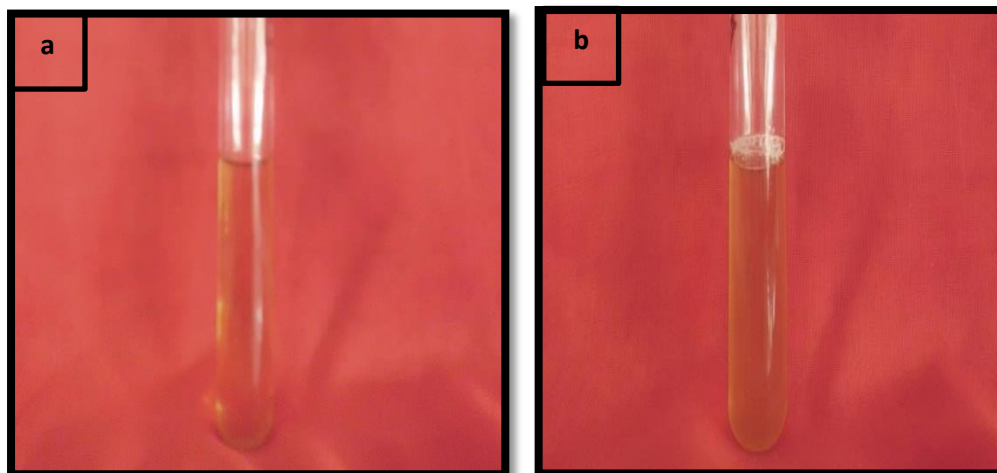


Gambar 3. Pengamatan pada Uji Metil Red Isolat Bakteri Probiotik (a) Reaksi Positif pada Isolat ULI6, (b) Reaksi Negatif pada Isolat ULI11.

Analisis fisiologi yang telah dilakukan pada penelitian ini adalah kemampuan tumbuh pada suhu yang berbeda, masing-masing isolat diinokulasi pada media MRS cair dan ditumbuhkan pada 3 suhu yang berbeda yaitu, 0-5°C, 15-20°C dan 25-37°C.

Hasil uji kemampuan pada suhu berbeda yang diinkubasi menggunakan media MRS cair pada suhu 0-5°C didapatkan semua isolat tidak tumbuh, suhu 15-20°C lima isolat tidak tumbuh dan isolat lainnya tumbuh, suhu 25-37°C untuk semua isolat tumbuh seperti yang disajikan pada Gambar 4. Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri asam laktat beragam pada setiap strain. Berdasarkan suhu optimum pertumbuhannya, bakteri asam laktat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu mesofilik (suhu optimum pertumbuhannya 25°C dan suhu maksimumnya 37°C – 40°C) dan

termofilik (suhu optimum pertumbuhannya 37 – 45°C dan suhu maksimumnya 45°C – 52°C). Pertumbuhan bakteri asam laktat juga beragam pada setiap strain. Ada yang bersifat psikotrofik (mampu tumbuh pada suhu 5°C atau dibawahnya) (Surono, 2004). Pada penelitian ini diperoleh seluruh isolat bakteri probiotik termasuk dalam kelompok bakteri mesofilik yang mampu tumbuh pada suhu 25°C sampai 40°C. Hasil yang sama juga diperoleh oleh Feliatra (2004) yang berhasil mengisolasi bakteri probiotik dari ikan kerapu macan dan memberikan perlakuan pada tiga suhu yang berbeda yaitu 5°C, 20°C, dan 30°C, seluruh bakteri probiotik yang diperoleh mampu tumbuh pada suhu kisaran 30°C sampai 40°C, karena pada suhu tersebut memang suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri probiotik.



Gambar 4. Pengamatan pada Kemampuan Tumbuh pada Suhu Berbeda (a) Tidak Tumbuh pada Suhu 0-5°C (kode isolat ULI1), (b) Tumbuh pada Suhu 25-37°C (kode isolat ULI9).

e. Identifikasi Genus Bakteri Probiotik

Berdasarkan pengamatan morfologi koloni, morfologi sel serta uji biokimia dan uji fisiologis, sebanyak 16 isolat hasil isolasi termasuk genus *Lactobacillus*. Bakteri yang mendekati genus ini mempunyai ciri-ciri morfologi sebagai berikut: warna koloni putih susu atau agak krem, bentuk koloni bulat. Sel berbentuk batang dan biasanya tetap, berukuran 0,5-1,2 x 1,0-10,0 µm. Bakteri ini biasanya berbentuk batang panjang tapi kadang-kadang hampir bulat, biasanya bentuk rantai yang pendek, Gram positif, tidak motil, oksidase positif, katalase negatif dan optimum pada suhu 30-37°C. Menurut Holt *et al.* (1994), bakteri *Lactobacillus* sp. ini termasuk Gram positif, tidak berspora, tidak motil, fakultatif anaerob, kadang-kadang mikroaerofilik, sedikit tumbuh di udara tapi tumbuh baik pada keadaan di bawah tekanan oksigen rendah dan beberapa anaerob pada isolasi. Pada umumnya bakteri ini tumbuh baik sekali pada 5% CO₂.

Genus *Lactobacillus* memiliki beberapa spesies yang mampu mensintesis vitamin sehingga biasanya digunakan dalam analisa vitamin, dan sebagian besar jenis dari genus *Lactobacillus* ini bersifat termotoleran yang berarti tahan suhu pasteurisasi. Jenis-jenis yang termasuk dalam genus *Lactobacillus* ini dapat dibedakan atas dua kelompok, yaitu: (1) *Homofermentatif* yang berarti bakteri tersebut mampu memecah gula terutama menjadi asam laktat, dan mampu tumbuh pada suhu kisaran 37°C atau lebih. (2) *Heterofermentatif* yaitu mampu memecah gula menjadi asam laktat dan produk-produk lain seperti alkohol, asetat dan karbon dioksida.

KESIMPULAN

Jumlah isolat yang didapatkan sebanyak 16 isolat bakteri probiotik. Isolat bakteri probiotik yang dipilih memiliki karakter bentuk koloni bulat, warna koloni putih susu dan krem, tepian koloni licin, elevasi cembung serta ukuran koloni kecil dan sedang.

Pada uji biokimia didapatkan semua bakteri probiotik memiliki katalase negatif, oksidase positif, tidak motil, serta uji metil red yang terdiri atas positif dan negatif. Pada uji fisiologis didapatkan semua bakteri probiotik tidak mampu tumbuh pada suhu 0-5°C, sedangkan pada suhu 15-20°C sebagian bakteri probiotik mampu tumbuh dan sebagian lainnya tidak mampu tumbuh pada suhu tersebut, untuk suhu 25-37°C semua bakteri probiotik mampu tumbuh pada suhu tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Elvyra, R. & Yus, Y. 2012. *Ikan Lais dan Sungai Paparan Banjir di Provinsi Riau*. Pekanbaru: UR Press Pekanbaru.
- Feliatra 2002. Implementasi dan Pengembangan Bioteknologi Kelautan dalam Upaya Optimalisasi Pemanfaatan Laut Indonesia. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau, 5 November 2002. Pekanbaru
- Feliatra, I.E dan E. Suryadi. 2004. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogutatus*) Dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. *Jurnal Natur Indonesia*. ISSN 1410-9379.
- Gatesoupe, F. J. 1999. The Use of Probiotics in Aquaculture. Review. *Aquaculture*. 180: 147-165nhlm
- Holt. G., Kreig, N.R., Sneath, P.H.A., Stanley, J.T. & Williams, S.T. 1994. *Bergeys Manual Determinative Bacteriology*. Baltimore: Williamn and Wilkins Baltimore.
- Surono, I.S. 2004. Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan. Jakarta: Tri Cipta Karya.
- Waspodo, I. S. 2001. Agar Probiotik Menyehatkan Saluran Cerna. Internet.<http://www.kompas.com/kompascetak/0411/06/Jendela/136780.htm>. Surf 04 April 2014.
- Yulfizar, C. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada *Rastrelliger* sp.. Universitas Syiah Kuala. Indonesia
- Zulkifli. 2001. Digestive protase capacity in fish in relation to species, body size, growth and dietary compositions. A Thesis submitted for the degree of doctor of phylosophy to departement of Biologycal Science. Heriot Watt Universiity Edinburgh. 6:96-107 p.