

Efektivitas Bakteri *Bacillus subtilis* terhadap Kelulushidupan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

Effectiveness of *Bacillus subtilis* on survival rate of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) infected with *Pseudomonas fluorescens*

Budianto*, Ihza Farras Faadhilah, Aprilia Ekawati, Silvia Anggaita, Qurrota A'yunin, Sri Andayani

Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya,
Jalan Veteran, Malang, Jawa Timur, 65145, Indonesia

*Korespondensi: budianto.bp@ub.ac.id

ABSTRAK

Penyakit bakterial yang menginfeksi ikan air tawar terutama ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yaitu penyakit septikemia yang terjadi akibat infeksi oleh *Pseudomonas fluorescens*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas bakteri *Bacillus subtilis* terhadap kelulushidupan ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. fluorescens* secara *in vivo*. Dosis *B. subtilis* yang digunakan berbeda-beda tiap perlakuan yakni A (10^4 CFU/ml), B (10^6 CFU/ml), dan C (10^8 CFU/ml). Ikan dipelihara selama 7 hari untuk dihitung kelulushidupannya. Pemberian dosis bakteri *B. subtilis* memberikan pengaruh nyata ($\alpha < 0,05$) terhadap kelulushidupan ikan nila yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens*. Dosis terbaik bakteri *B. subtilis* pada perlakuan A (10^4 CFU/ml) dapat meningkatkan kelulushidupan ikan nila yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens* dengan nilai kelulushidupan sebesar $93,33 \pm 11,55\%$. Rata-rata kisaran kualitas air pada masa pemeliharaan yakni suhu $25^\circ-30^\circ$ C, pH 7,2-9, dan oksigen terlarut 5,50-7,00 ppm.

Kata Kunci: *Bacillus subtilis*; Ikan nila (*Oreochromis niloticus*); *Pseudomonas fluorescens*

ABSTRACT

A bacterial disease that infects freshwater fish, especially tilapia (*Oreochromis niloticus*), is a septicemia disease caused by *Pseudomonas fluorescens* infection. The purpose of this study was to determine the effectiveness of *Bacillus subtilis* on the survival of tilapia infected with *P. fluorescens* *in vivo*. The doses of *B. subtilis* used were different for each treatment, namely A (10^4 CFU/ml), B (10^6 CFU/ml), and C (10^8 CFU/ml). Fish were kept for 7 days to calculate their survival rate. Dosage of *B. subtilis* bacteria had a significant effect ($\alpha > 0,05$) on the survival of tilapia infected with *P. fluorescens* bacteria. The best dose of *B. subtilis* in treatment A (10^4 CFU/ml) could increase the survival rate of tilapia infected with *P. fluorescens* with a survival rate of $93.33 \pm 11.55\%$. The average ranges of water quality during the maintenance period are $25^\circ-30^\circ$ C, pH 7.2-9, and dissolved oxygen 5.50-7.00 ppm.

Keywords: *Bacillus subtilis*; Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*); *Pseudomonas fluorescens*

PENDAHULUAN

Kerugian yang disebabkan oleh penyakit seperti kualitas air yang menurun, kematian massal, dan penurunan produksi menjadi masalah utama dalam usaha budidaya ikan. Salah satu penyakit infeksius yang dapat menyebabkan kematian ikan secara massal dan dalam waktu yang cepat adalah penyakit bakteri (Manurung dan Susantie, 2017). Gejala klinis pada ikan yang terserang oleh penyakit bakteri adalah pendarahan pada insang, perut membesar berisi carian, lepasnya ekor sirip, nafsu makan hilang, dan permukaan tubuh terdapat luka. Pembengkakan dan kerusakan pada ginjal, limpa dan hati akan terlihat jika dilakukan pembedahan pada tubuh ikan (Napitupulu, 2016).

Penyakit bakterial yang menginfeksi ikan air tawar terutama ikan nila yaitu penyakit septikemia yang terjadi akibat infeksi oleh *Pseudomonas fluorescens*. Bakteri *P. fluorescens* banyak menginfeksi ikan baik pada ikan budidaya maupun perairan (Nurjannah, et al., 2014). Hardi, et al., (2014) mengatakan patogenisitas dari bakteri *Pseudomonas* sp pada ikan dapat memberikan gejala klinis yakni pola renang ikan nila yang diinfeksi menunjukkan adanya abnormalitas yaitu ikan berenang *whirling* (miring). Gejala umum yang muncul saat penginfeksi pertama adalah ikan berenang lemah, diam di dasar akuarium, dan mengalami gangguan pernafasan sehingga posisi mulut ikan berada di bawah permukaan air (*gasping*) pada saat berenang.

Antibiotik komersil sering diberikan untuk menanggulangi ikan yang terserang penyakit bakterial. Namun, antibiotik komersil yang digunakan dalam jangka waktu yang lama dimungkinkan dapat menimbulkan resistensi bakteri (Zaman dan Sarbini, 2015). Pengobatan penyakit bakterial pun dapat dilakukan dengan pemanfaatan bakteri yang lain salah satunya adalah bakteri *Bacillus* sp. Simanjuntak, et al., (2016) menyatakan bahwa penggunaan

jenis bakteri *Bacillus* sp. mampu memperbaiki pertumbuhan, meningkatkan konsentrasi protease dalam saluran pencernaan, dan menurunkan jumlah bakteri potensi patogen dan intestinum ikan. Kemudian, enzim amylase dan protease dalam saluran pencernaan disekresi oleh bakteri *Bacillus* sp. Bakteri *B. subtilis* menghasilkan antibiotik yang dapat menembus sel patogen dan menghambat aktivitas patogen yang menyebabkan kerusakan sel dan hifa. Bakteri *B. subtilis* juga memproduksi dan mensekresikan siderofor dan hidrogen sianida yang beracun bagi patogen.

Pada penelitian sebelumnya oleh Budianto dan Suprastyani (2017) telah dilakukan uji daya hambat bakteri *B. subtilis* terhadap pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* secara *In Vitro* yang menunjukkan hasil Bakteri *B. subtilis* memiliki senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*. Hasil uji dari aktivitas antimikrob menggunakan metode cakram. Penelitian menggunakan OD₆₀₀ dan diameter zona hambat terhadap waktu inkubasi diameter zona hambat terus meningkat pada perlakuan lama inkubasi jam ke-30 (fase stasioner), dengan nilai diameter zona hambat terbesar yaitu $9,29 \pm 1,65$ mm sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas dan dosis terbaik bakteri *B. subtilis* terhadap kelulushidupan dan kualitas air ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. fluorescens*.

METODE PENELITIAN

Persiapan Hewan uji

Ikan uji yang digunakan adalah ikan nila (*O. niloticus*) yang didapatkan dari Balai Benih Ikan Tlogowaru, Malang. Ikan nila yang digunakan berukuran $8,33 \pm 0,87$ cm. Sebelum dilakukan penelitian, ikan diaklimatisasi selama 5 hari. Selama aklimatisasi ikan nila diberi pakan dengan FR (*Feeding rate*) sebesar 5% sebanyak 2 kali sehari.

Kultur Bakteri *B. subtilis* dan Bakteri Patogen

Bakteri *B. subtilis* diperoleh dari Loka Pemeriksaan Penyakit Ikan dan Laboratorium (LP2IL) Serang. Sedangkan untuk bakteri pathogen diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Kultur bakteri pathogen dilakukan berdasarkan Ulloa-Urizar *et al.* (2015) dengan sedikit modifikasi bahwa media kultivasi untuk bakteri *B. subtilis* menggunakan media *Trypticase Soy Agar* (TSA) (Merck) sedangkan bakteri patogen *P. fluorescens* menggunakan *Pseudomonas Selective Agar* (PSA) (Oxoid). Kultur dilakukan selama 24 jam pada suhu 32°C. Untuk uji penginfeksi bakteri terhadap ikan, koloni bakteri patogen diinokulasi dalam 3 ml Nutrient Broth dan diinkubasi tanpa agitasi selama 24 jam pada suhu 32°C. Hasil kultur kemudian diencerkan dengan media cair untuk menghitung kepadatan bakteri dengan 0.5 McFarland standard yang menunjukkan estimasi konsentrasi bakteri.

Penginfeksi Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

Penginfeksi bakteri *P. fluorescens* pada benih ikan nila berdasarkan hasil penelitian pendahuluan didapatkan metode sesuai dengan Amanda dan Ayuzar (2016), bahwa penginfeksi dilakukan dengan cara perendaman ikan nila selama 15 menit dalam 5 liter air menggunakan suspensi bakteri dengan konsentrasi 10⁷ CFU/mL. Proses perendaman ikan diuji pada suhu akuarium 26°-28 °C yang sebelumnya telah dilakukan uji LD₅₀.

Uji Aktivitas Antagonis Bakteri *Bacillus subtilis*

Setelah dilakukan penginfeksi bakteri pathogen, ikan dipindahkan ke 3 akuarium dengan kepadatan 10 ekor/akuarium dengan kapasitas air 10 liter. Uji aktivitas antagonis bakteri *B. subtilis* pada benih ikan nila

menggunakan metode yang sesuai dengan Rusdani, *et al.* (2016), bakteri *B. subtilis* diberikan pada media air budidaya di setiap akuarium sesuai perlakuan dengan dosis 10⁴ CFU/ml (A), 10⁶ CFU/ml (B), dan 10⁸ CFU/ml (C) masing masing perlakuan terdapat 3 ulangan. Penginfeksi dilakukan sekali pada awal pemeliharaan. Setiap akuarium diberi aerasi untuk meningkatkan suplai oksigen dan ikan uji dipelihara selama 7 hari. Selama pemeliharaan, dilakukan pengukuran suhu, pH, dan DO setiap hari pada pagi dan sore hari (pukul 07.30 dan 15.00 WIB), masing-masing menggunakan alat termometer, pH meter, dan DO meter.

Kelulushidupan

Kelulushidupan ikan merupakan perbandingan jumlah ikan yang hidup di awal dan akhir penelitian. Rumus yang digunakan untuk menghitung kelulushidupan ikan berdasarkan Putra, *et al.* (2017), adalah sebagai berikut:

$$SR = \frac{No - Nt}{No} \times 100\%$$

Keterangan :

- No = Jumlah ikan pada awal penelitian
Nt = Jumlah ikan pada akhir penelitian
SR = Tingkat kelulushidupan (%)

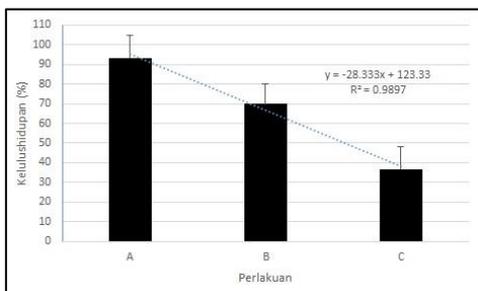
Analisis Data

Data yang diperoleh akan dilakukan analisa secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) dan Uji Duncan sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) ($\alpha = 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kelulushidupan ikan nila selama pemeliharaan dalam penelitian memiliki

perbedaan pada setiap perlakuan. Tingkat kematian tertinggi terjadi pada perlakuan C (10^8 CFU/ml) dimana dari 10 ekor ikan yang dipelihara pada masing-masing ulangan terjadi kematian sebanyak 7, 5, dan 7 ekor. Hasil kematian ikan nila ini menunjukkan bahwa perlakuan C memiliki kelulushidupan sebesar $36,67 \pm 11,55$ %. Pada Tabel 1 juga menunjukkan bahwa hasil yang berbeda terjadi pada Perlakuan A (10^4 CFU/ml). Pada perlakuan A terjadi kematian hanya pada 1 ulangan saja sebanyak 2 ekor dari 10 ekor ikan yang dipelihara. Selain itu, pada Gambar 1 menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis bakteri *B. subtilis* yang diberikan dapat menurunkan tingkat kelulushidupan ikan Nila yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens*.



Gambar 1. Tingkat Kelulushidupan Ikan Nila yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens*

Berdasarkan hasil uji F (Anova) menggunakan SPSS menunjukkan nilai sig. (0,002) < 0,05 yang mengartikan bahwa pemberian dosis bakteri *B. subtilis* memberikan pengaruh nyata terhadap kelulushidupan ikan nila yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens*. Selanjutnya, berdasarkan hasil uji lanjut Duncan

menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara perlakuan A, B, dan C. Selain itu, Perlakuan A merupakan dosis yang paling optimum terhadap kelulushidupan ikan nila yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens* sebesar $93,33 \pm 11,55$ %. Juga Tingkat kelangsungan hidup ikan pada pemeliharaan perlakuan A tergolong baik, hal ini dinyatakan oleh Mulyani, *et al.* (2014), bahwa tingkat kelangsungan $\geq 50\%$ tergolong baik, kelangsungan hidup 30-50% sedang dan kurang dari 30% tidak baik.

Bakteri *B. subtilis* merupakan salah satu mikroorganisme yang diketahui dapat mencegah penyakit pada ikan atau biasa disebut dengan bakteri antagonis. Pemanfaatan bakteri antagonis sebagai agen hayati pengendali penyakit pada ikan semakin penting dalam mengurangi dan bahkan menghilangkan penggunaan antibiotik pada budidaya. Menurut Verschuere, *et al.* (2000), mekanisme bakteri antagonis yang digunakan sebagai biokontrol yaitu menghasilkan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan patogen, terjadi kompetisi pemanfaatan senyawa tertentu atau kompetisi pemanfaatan energi, kompetisi tempat menempel, dan meningkatkan kekebalan inang.

Kemampuan *B. subtilis* menjadi mikroba menguntungkan dalam menghambat patogen dikarenakan menurut Rukmini, *et al.* (2015), *B. subtilis* memiliki senyawa antibiotik yaitu polymyxin, colistin, dan circulin mampu menghambat aktivitas bakteri gram negatif. Selain itu, *B. subtilis* juga mempunyai senyawa lain seperti basitrasin.

Tabel 1. Kelulushidupan (%) Ikan Nila yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens*

Perlakuan	Ulangan			Rerata (%)
	1	2	3	
A	100	80	100	$93,33 \pm 11,55$
B	70	80	60	$70,00 \pm 10,00$
C	30	50	30	$36,67 \pm 11,55$

Basitrasin merupakan campuran dari beberapa polipeptida yang berbeda dalam komposisi asam aminonya. Selain itu basitrasin mampu menghambat biosintesis dinding sel. Soesanto (2008) menambahkan bahwa basitrasin mampu merusak dinding sel mikroba dengan menghambat sintesis enzim atau inaktivasi enzim, sehingga menghilangkan viabilitas dan sering menyebabkan sel lisis. Basitrasin menghambat sintesis dinding sel terutama dengan mengganggu sintesis peptidoglikan.

Menurut Parameswari, *et al.* (2013), probiotik seperti *B. subtilis* tidak selalu memberikan hasil yang positif pada pengujian terhadap spesies ikan yang berbeda. Probiotik sebanyak 0,001 mg/L dapat menyebabkan penurunan kelangsungan hidup pada benih patin jambal (*Pangasius djambal*). Selain itu, probiotik juga tidak berpengaruh nyata untuk memperbaiki jaringan organ pada ikan gabus (*Channa striata*) yang diuji. Jumlah bakteri yang terlalu banyak menyebabkan bakteri cepat membentuk spora sehingga fungsi dan aktivitas bakteri probiotik tidak optimal. Setiawati, *et al.* (2013) menerangkan bahwa *B. subtilis* merupakan bakteri yang dapat menguraikan protein menjadi asam amino. Asam amino ini digunakan oleh bakteri tersebut untuk memperbanyak diri. Pertumbuhan *B. subtilis* yang semakin tinggi menimbulkan persaingan dengan patogen dalam pengambilan nutrisi yang pada akhirnya menghambat aktivitas bakteri probiotik di dalam saluran

pencernaan ikan sehingga sekresi enzim menurun.

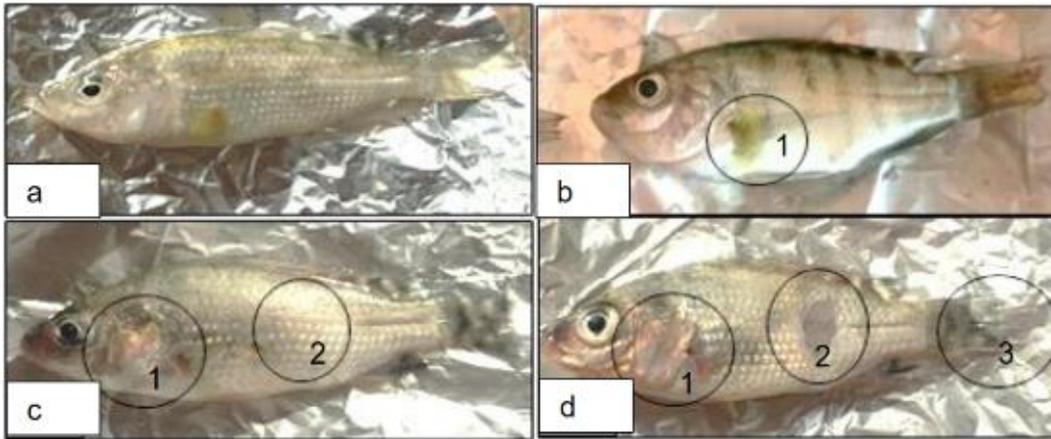
Gejala klinis yang timbul pada ikan uji selama penelitian berlangsung adalah gerakan ikan menjadi lamban, ikan cenderung diam di dasar akuarium, luka/borok, perdarahan pada bagian pangkal sirip ekor dan sirip punggung, dan pada perut bagian bawah terlihat buncit dan terjadi pembengkakan. Ikan sebelum mati naik ke permukaan air dengan sikap berenang yang labil. Gejala ini pernah pula dilaporkan oleh bahwa tanda-tanda umum dari ikan yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens* adalah ikan bergerak lamban, mengambil oksigen di permukaan air atau diam di dasar perairan, tidak mau makan, sirip rusak, luka pada kulit sampai ke otot, exophthalmus (mata menonjol), perut membengkak berisi cairan kemerahan, darah dan jaringan yang terserang menjadi tidak berfungsi. Gejala penyakit tersebut timbul 48 jam setelah ikan terinfeksi. Gambaran gejala klinis pada ikan uji disajikan pada Gambar 2.

Kualitas air

Rata-rata nilai data kualitas air pada penelitian ini telah disajikan pada Tabel 2 sebagai berikut:

Tabel 2. Data Kualitas Air

No.	Indikator	Kisaran
1.	Suhu	25° - 30° C
2.	pH	7,20 - 9,00
3.	DO	5,50 - 7,00 mg/l



Gambar 2. Gejala Klinis Infeksi *P. fluorescens* pada Ikan Nila (*O. niloticus*); (a) Ikan Sehat, (b) Hemoragi¹, (c) Bercak Merah pada Operkulum dan Sirip¹, serta Perut Membesar², (d) Bercak Merah pada Operkulum dan Sirip¹, Luka pada Kulit², serta Sirip Ekor Rusak³.

Data hasil penelitian menunjukkan nilai suhu berkisar antara 25-30°C. Menurut BSNI (2009), untuk produksi ikan pada budidaya air tenang membutuhkan suhu kisaran 25°-32°C. Menurut Kordi (2009), suhu 25°-30°C merupakan suhu optimum untuk pertumbuhan ikan nila. Effendi (2003), bahwa masuknya sinar matahari ke perairan akan menyebabkan perubahan energi panas dalam perairan. Sehingga dapat dikatakan bahwa suhu pada penelitian ini masih tergolong dapat ditoleransi oleh ikan nila. Hal ini tidak mempengaruhi metabolisme ikan.

Selama pelaksanaan penelitian, nilai pH pada air media pemeliharaan ikan nila berkisar antara 7,2 - 9,0. Menurut Panggabean, et al. (2016), pH 6-8,5 merupakan nilai pH yang cocok dalam budidaya ikan nila, dan pH 5-11 dapat ditoleransi ikan nila. Irianto dan Triwoko (2011) menyatakan bahwa kondisi perairan bersifat netral apabila nilai pH sama dengan 7 dan kondisi perairan bersifat asam bila pH kurang dari 7, sedangkan pH lebih dari 7 perairan bersifat basa. Sehingga dapat dikatakan bahwa nilai pH pada penelitian ini masih tergolong dapat ditoleransi oleh ikan nila. Hal ini tidak mempengaruhi apa-apa pada ikan.

Data hasil penelitian menunjukkan DO berkisar antara 5,50 - 7,00 mg/l.

Menurut Iskandar dan Elrifadah (2015), selama pemeliharaan ikan pada air tenang membutuhkan kandungan oksigen yang terlarut (DO) berkisar antara 3,5-4,1 ppm. Menurut Arie (1999), bahwa kandungan oksigen yang baik untuk budidaya ikan minimal 4 mg/l air. Menurut BSNI (2009), nilai oksigen terlarut yang layak digunakan untuk budidaya ikan nila yakni > 3 mg/l. Sehingga dapat dikatakan bahwa DO pada penelitian ini masih tergolong dapat ditoleransi oleh ikan nila. Hal ini tidak mempengaruhi apa-apa pada ikan.

KESIMPULAN

Pemberian dosis bakteri *B. subtilis* memberikan pengaruh nyata terhadap kelulushidupan ikan nila yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens*. Dosis terbaik bakteri *B. subtilis* pada perlakuan A (10^4 CFU/ml) dalam meningkatkan kelulushidupan ikan nila yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens* dengan nilai kelulushidupan sebesar $93,33 \pm 11,55\%$. Rata-rata kisaran kualitas air pada masa pemeliharaan yakni suhu 25°-30° C, pH 7,2-9, dan oksigen terlarut 5,50-7,00 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Arie, U. (1999). *Pembenihan dan Pembesaran Nila Gift*. Cet 1 Penebar Swadaya. Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional Indonesia., (2009). SNI No. 7550:2009. *Produksi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*, Bleeker) Kelas Pembesaran di Kolam Air Tenang*. Jakarta.
- Budianto dan Suprastyani, H. (2017). Aktivitas Antagonis *Bacillus subtilis* terhadap *Streptococcus iniae* dan *Pseudomonas fluorescens*. *Jurnal Veteriner*, 18(3), pp. 409-415.
- Effendi, H. (2003). *Telaah Kualitas Air bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Kanisius. Yogyakarta.
- Ulloa-Urizar, G. Aguilar-Luis, M.A., Lama-Odría, M.D.C.D., Camarena-Lizarzaburu, J. & Mendoza, J.V. (2015). Antibacterial activity of five Peruvian medicinal plants against *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 5(11); 928-931
- Hardi, E.H., Catur, A.P., & Gina, S. (2014). Toksisitas Produk Ekstraseluler dan Intraseluler Bakteri *Pseudomonas* sp. pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*), *Jurnal Veteriner*, 15 (3), pp. 312-322.
- Irianto dan Triwoko. (2011). *Eutrofikasi Waduk dan Danau: Permasalahan, Pemodelan dan Upaya Pengendalian*. Litbang Sumber Daya Air dan Pekerjaan Umum. Bandung.
- Iskandar, R. & Elrifadah., (2015). Pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi pakan buatan berbasis kiambang. *Ziraa'ah*, 40(1), pp. 18-24.
- Kordi, K. (2009). *Budi Daya Perairan*. PT Citra Aditya Bakti. Bandung.
- Manurung, U.N. & Susantie, D., (2017). Identifikasi bakteri patogen pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di lokasi budidaya ikan air tawar Kabupaten Kepulauan Sangihe. *Budidaya Perairan*, 5(3), pp. 11-17.
- Mulyani, Y.S., Yulisman, & Mirna, F., (2014). Pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dipuasakan secara periodik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 2(1), pp. 1-12.
- Napitupulu, R.A., Suryanto, D., & Desrita, D., (2016). Isolasi dan identifikasi bakteri potensial patogen pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di Kolam Budidaya Patumbak. *Jurnal Aquacoastmarine*, 15(1), pp. 1-10.
- Nurjanah, S., Slamet, B.P., dan Sarjito., (2014). Sensitivitas bakteri *Aeromonas* sp. dan *Pseudomonas* sp. yang diisolasi pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) sakit terhadap berbagai macam obat beredar. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 3(4), pp. 308-316.
- Panggabean, T.K., Ade, D.S., & Yulisman. (2016). Kualitas air, kelangsungan hidup, pertumbuhan, dan efisiensi pakan ikan nila yang diberi pupuk hayati cair pada air media pemeliharaan. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 4(1), pp.67-79.
- Parameswari, W., Sasanti, A.D., & Muslim. (2013). Populasi bakteri, histologi, kelangsungan hidup dan pertumbuhan benih ikan gabus (*Channa striata*) yang dipelihara dalam media dengan penambahan probiotik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*. 1 (1): 76-89.
- Putra, E.M., Gunanti, M., & Luthfiana, A.S. (2017). Infestasi ektoparasit pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dipelihara dengan menggunakan sistem akuaponik dan tanpa akuaponik. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 7(1), pp. 42-49.
- Rukmini, M., Sahoo, D., Dalei, J., & Ray, R. (2015). Production, purification

- and characterization of bacitracin from *Bacillus subtilis*. *The Pharma Innovation Journal*. **3** (12): 77-82.
- Rusdani, M.M., Amir, S., Waspodo, S., & Abidin. Z. (2016). Pengaruh pemberian probiotik *Bacillus* spp. melalui pakan terhadap kelangsungan hidup dan laju pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Biologi Tropis*. **16** (1): 34-40.
- Setiawati, J.E., Tarsim, Adiputra, Y.T., & Hudaidah, S. (2013). Pengaruh penambahan probiotik pada pakan dengan dosis berbeda terhadap pertumbuhan, kelulushidupan, efisiensi pakan dan retensi protein ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*). *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. **1** (2): 151-162.
- Simanjuntak, I.C.B.H., Suminto & Agung, S. (2016). Pengaruh konsentrasi bakteri probiotik yang berasosiasi dalam usus sebagai bioflok terhadap efisiensi pemanfaatan pakan, pertumbuhan dan kelulushidupan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 5(2), pp. 1-8.
- Soesanto, L. (2008). Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman, Suplemen ke Gulma dan Nematoda. Rajawali Pers. 573 p.
- Verschuere, L., Rombout, G., Sorgeloos, P., & Verstraete, W. (2000). Probiotics bacteria as biocontrol agents in aquaculture. *App. Environ. Microbiol.* **64**: 655-671.
- Zaman, S.A. & Sarbini, R.S. (2015). The potential of resistant starch as a prebiotic. *Critical Review Biotechnology. Early Online*, pp. 1-7.