

**UJI TANTANG BAKTERI *Bacillus* KANDIDAT PROBIOTIK SECARA
INVITRO TERHADAP BAKTERI *Vibrio harveyi***

(Skripsi)

Oleh

Rizka Oktavia



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2018**

ABSTRAK

UJI TANTANG BAKTERI *Bacillus* KANDIDAT PROBIOTIK SECARA INVITRO TERHADAP BAKTERI *Vibrio harveyi*

Oleh

Rizka Oktavia

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri yang dapat melawan pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*. Berdasarkan hasil uji kompetisi sesama *Bacillus* didapatkan kelima isolat *Bacillus* mampu saling berkompetisi dan saling tumbuh pada media SWCA. Pada uji antagonis kelima isolat bakteri *Bacillus* terhadap bakteri *Vibrio harveyi*, ternyata bakteri *Bacillus* tidak menghasilkan anti bakteri pada hari kedua. Pada metode percobaan kultur bersama antara bakteri *Bacillus* dengan bakteri *Vibrio harveyi*, ternyata bakteri *Bacillus* mampu menekan pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* pada hari ke-4

Kata kunci: *Bacillus*, Probiotik, *Vibrio*, Vibriosis.

**UJI TANTANG BAKTERI *Bacillus* KANDIDAT PROBIOTIK SECARA
INVITRO TERHADAP BAKTERI *Vibrio harveyi***

**Skripsi
Sebagai Salah Satu Syarat mencapai gelar
SARJANA SAINS**

**Pada
Jurusani Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

**Oleh
RIZKA OKTAVIA**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

Judul Skripsi

: **UJI TANTANG BAKTERI *Bacillus* sp.
SEBAGAI KANDIDAT PROBIOTIK
SECARA INVITRO TERHADAP
BAKTERI *Vibrio harveyi***

Nama Mahasiswa

: **Rizka Oktavia**

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1417021103

Jurusan

: Biologi

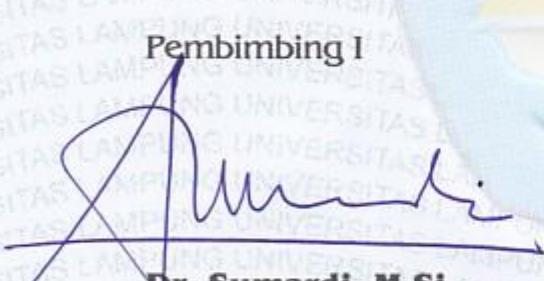
Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

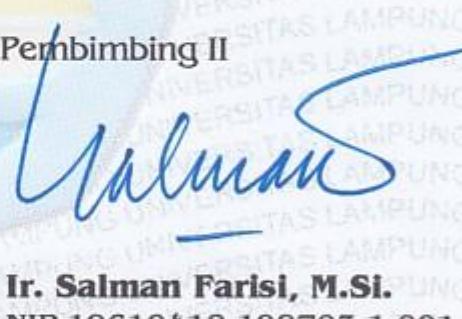
1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I



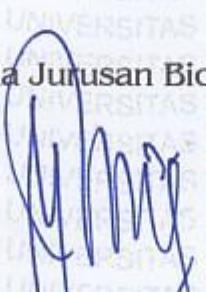
Dr. Sumardi, M.Si.
NIP 19650325 199103 1 003

Pembimbing II



Ir. Salman Farisi, M.Si.
NIP 19610418 198703 1 001

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA



Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP 19660305 199103 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

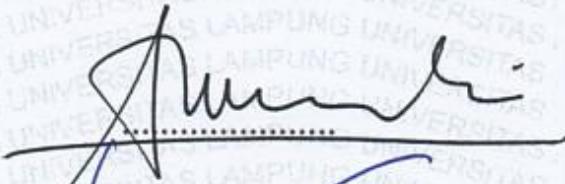
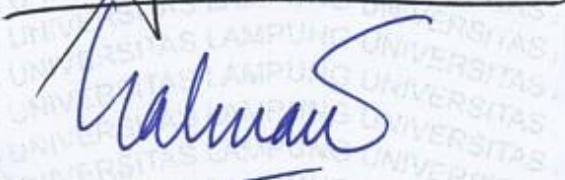
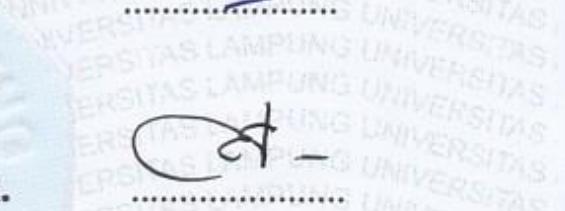
: Dr. Sumardi, M.Si.

Sekretaris

: Ir. Salman Farisi, M.Si.

Penguji

Bukan Pembimbing **: Dra. C.N. Ekowati, M.Si.**

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D.

NIP 19710212 199512 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 3 Juli 2018

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan pada tanggal 08 Oktober 1996, di Bukit Kemuning Lampung Utara Provinsi Lampung. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara oleh pasangan Bapak Aston dan Ibu Pispaneti.

Penulis mengawali pendidikan di Taman Kanak-kanak Dharma wanita Bukit Kemuning pada tahun 2001. Penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Dasar Negeri 3 Bukit Kemuning, Lampung Utara pada tahun 2002 dan diselesaikan pada tahun 2008, dilanjutkan dengan pendidikan menengah di SMP Negeri 1 Bukit Kemuning, Lampung Utara. Pada tahun 2011 penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 3 Kotabumi, Lampung Utara.

Pada tahun 2014 penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung Melalui Jalur Seleksi Bersama Masuk Pergutuan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama perkuliahan penulis pernah menjadi asisten pada Matakuliah Biosistematika Tumbuhan dan Fisiologi Mikroba. Penulis juga aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA UNILA sebagai anggota Biro Dana dan Usaha pada tahun 2016.

Penulis melaksanakan kuliah kerja nyata di Desa Sribasuki Kecamatan Seputih Banyak, Lampung Tengah Pada Januari–Februari 2017, ti dan melaksanakan kerja praktik di Balai Riset Standartdisasi Bandar Lampung pada Juli–Agustus 2017 dengan judul “**Uji Angka Lempeng Total Pada Bakso Ayam**”.

PERSEMBAHAN

*Alhamdulillahirabbil Alamin Puji syukur kepada Allah SWT
berkat rahmat dan hidayah nya skripsi ini dapat
terselesaikan dengan baik.*

Kupersembahkan karya sederhana ini kepada :

*Kedua Orangtuaku, mama dan papa tercinta yang selalu
memberikan motivasi dan dukungan dalam semua hal dan
tidak pernah lelah mendoakanku.*

*Kakak dan adikku tersayang yang selalu menghibur,
menyemangati dan memotivasku.*

*Sahabat yang selalu menjadi penyemangat dalam
menyelesaikan perkuliahanaku*

Untuk almamater kebanggaanku Universitas Lampung

MOTTO

*Barang siapa keluar untuk mencari ilmu maka dia berada di jalan Allah
(HR.Turmudzi)*

*Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagi kamu. Dan boleh jadi
kamu mencintai sesuatu, padahal ia amat buruk bagi kamu. Allah Maha mengetahui
sedangkan kamu tidak mengetahui”*

(Al-Baqarah: 216)

*"Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnya sesudah
kesulitan itu ada kemudahan."*

(Asy Syarh ayat 5-6)

*"Bagian terbaik dari hidup seseorang adalah perbuatan-perbuatan baiknya dan
kasihnya yang tidak diketahui orang lain."*

(William Wordsworth)

SANWACANA

Puji syukur Penulis ucapkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena atas rahmat dan hidayah-Nya skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik dan tepat waktu dengan judul **“Uji Tantang Bakteri *Bacillus Kandidat Probiotik Secara Invitro* Terhadap Bakteri *Vibrio Harveyi*”**

Dalam penyelesaian skripsi ini Penulis mendapatkan banyak sekali bantuan dari beberapa pihak, sehingga dalam kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terimakasih kepada :

1. Kedua orang tua, Papa (Aston) dan Mama (Pispaneti) yang selalu memberi dukungan baik moril, maupun materil, kasih sayang, dan doa yang diberikan dengan keikhlasan selama hidup.
2. Kedua saudara, kakak (Anestia Wulandari) dan adik (Muhamad Ilham Rajab) yang telah memberikan perhatian, motivasi dan kebahagiaan serta selalu mendengarkan keluh kesah penulis..
3. Bapak Dr. Sumardi, M.Si selaku Pembimbing I yang telah memberikan , arahan dan bimbingan, dan masukkan yang sangat membantu penulis selama penulis menjalani proses bimbingan.
4. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si., selaku Pembimbing II () yang dengan sabar membimbing, memberi perhatian dan membagi ilmu serta membantu penulis menyelesaikan skripsi praktik ini.
5. Ibu Dra. C. N. Ekowati, M.Si. selaku Pembahas yang telah membimbing dengan sabar, memberi masukan, kritik dan saran, kepada penulis hingga terselesainya srikpsi ini.
6. Ibu Dra. Yulianty, M.sc., selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan dukungan sejak masuk kuliah dan selama kegiatan kerja praktik.
7. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M. Sc., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan dukungan selama kegiatan kerja praktik.

8. Bapak Prof. Warsito, D.E.A.,Ph.D selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
9. Keluarga besar Marabatuah yang selalu menghibur, mendoakan dan memotivasi.
10. Yuni Sartika dan Afiliani Hidayati yang selalu setia mendengarkan semua keluh kesah, menghibur dan memberi semangat.
11. Team penelitian CKPTWB yang selalu membantu dan menemani. Nandia, Komang, Risma, Suminta, dan Milsa, serta team Banana Agung, Kak Ros, Benny, Mba Di, dan Ketut.
12. Keluarga seatap Abimanyu Yuni, Fenti, Nia, dan Elisa yang selalu sedia membukakan gerbang saat pulang malam.
13. Jashinda, Theo, Mia, Norman, Surya, Mba Balqis, Titin, Ayu, Sariah, Maya, Linda, Indri terimakasih sudah membantu, mendoakan, dan memberi semangat.
14. *Microholic* 14 dan Biologi 14 terimakasih banyak atas kebersamaannya.
15. Serta seluruh pihak yang tidak bisa disebutkan satu-persatu.

Penulis berharap Allah SWT membalas kebaikan dan segala pengorbanan kalian, semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi kita semua, amin.

Bandar Lampung,... Agustus 2018

Penulis,

Rizka Oktavia

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN	i
ABSTRAK	ii
HALAMAN JUDUL DALAM	iii
HALAMAN PERSETUJUAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
RIWAYAT HIDUP	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	viii
MOTTO	ix
SANWACANA	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang	1
B. Tujuan.....	4
C. Manfaat.....	4
D. Kerangka Pemikiran.....	4
E. Hipotesis	5

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Budidaya Udang	6
B. Bakteri <i>Vibrio</i> dan Penyakit <i>Vibriosis</i>	8
C. Probiotik	12
D. Bakteri <i>Bacillus sp</i>	14
E. Bakteri Antagonis	15

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat	17
B. Alat dan Bahan	17
C. Metode.....	18
A. Isolat Bakteri	18
B. Kompetisi <i>Bacillus</i>	18
C. Uji Antagonis	19
D. Percobaan Kultur Bersama.....	19

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Pengamatan.....	22
B. Pembahasan	25

V. KESIMPULAN**DAFTAR PUSTAKA**

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perlakuan percobaan Kultur bersama	20
Tabel 2. Hasil Uji Kompetisi <i>Bacillus</i>	22
Tabel 3. Hasil Uji Kompetisi	23
Tabel 4. Data Hasil Penelitian Hari Kesatu	40
Tabel 5. Data Hasil Penelitian Hari Kedua	40
Tabel 6. Data Hasil Pengamatan Hari Ketiga	41
Tabel 7. Data Hasil Pengamatan Hari Keempat.....	41

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Hasil uji kompetisi <i>Bacillus</i>	23
Gambar 2. Hasil Uji Kompetisi <i>Bacillus</i> Vs <i>Vibrio harveyi</i>	24
Gambar 3. Pertumbuhan Bakteri <i>Vibrio</i>	24
Gambar 4. Uji Kompetisi <i>Bacillus</i>	24
Gambar 5. Uji Kompetisi	35
Gambar 6. Percobaan kultur bersama (Kontrol)	36
Gambar 7. Percobaan kultur bersama (Perlakuan).....	37
Gambar 8. Perhitungan Sel Bakteri.....	38
Gambar 9. Koloni Bakteri <i>Bacillus</i> Pada Media SWCA	38
Gambar 10. Koloni <i>Vibrio</i> Pada Media TCBS	39
Gambar 11. Inokulasi Bakteri Pada Media Cair	39
Gambar 12. Starter Bakteri Percobaan Kultur Bersama	40

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Budidaya udang merupakan salah satu kegiatan alternatif dalam meningkatkan produksi perikanan (Hikmayani dkk., 2012; Karuppasamy dkk., 2013). Syarat terlaksananya kegiatan budidaya adalah adanya organisme yang dibudidayakan, media hidup organisme, dan wadah/ tempat budidaya. Vaname adalah salah satu jenis udang yang sering dibudidayakan. Hal ini disebabkan udang memiliki prospek dan profit yang menjanjikan (Babu dkk., 2014).

Permintaan udang vaname sangat besar baik pasar lokal maupun internasional, karena memiliki keunggulan nilai gizi yang sangat tinggi serta memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi menyebabkan pesatnya budidaya udang vannamei. Namun, kegiatan budidaya udang terganggu oleh adanya serangan penyakit yang ditimbulkan oleh bakteri, virus, dan jamur. Penyakit vibriosis merupakan salah satu jenis penyakit bakterial yang menyerang seluruh siklus udang vaname dan telah menyebabkan tingginya tingkat kematian pada budidaya udang dunia (Heidarieh dkk. 2010). Vibriosis merupakan salah satu jenis penyakit infeksius yang sering menyerang organisme akuatik air laut seperti ikan dan udang. Penyakit ini umumnya disebabkan oleh anggota genus *Vibrio* diantaranya *Vibrio harveyi*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio aemolyticus*,

dan *Vibrio penaeicida* (Longyant dkk., 2008). *Vibrio harveyi* merupakan patogen yang berasosiasi pada penyakit udang berpendar (Austin and Zhang 2006).

Penanggulangan penyakit secara praktis yaitu dengan menggunakan antibiotik, namun penggunaan antibiotik yang berlebihan akan memperoleh hasil yang kurang memuaskan dan menimbulkan efek samping yang merugikan lingkungan, diantaranya terjadinya keracunan bahkan dapat menimbulkan kematian terhadap biota lain yang menguntungkan (Rukyani dan Tauhid, 1984), biota target juga dapat mengalami resistensi terhadap bahan kimia tersebut, sehingga penggunaan antibiotik sudah dilarang karena mempunyai dampak negatif pada lingkungan (Isnansetyo dkk., 2009). Karena hal tersebut, maka perlu dicari alternatif lain untuk penanganan penyakit dan parasit dan tidak merusak lingkungan. Salah satu alternatifnya adalah dengan penggunaan probiotik.

Menurut Verschuere dkk. (2000) probiotik adalah agen mikroba hidup yang memberikan pengaruh menguntungkan pada inang dengan cara memodifikasi komunitas mikrob atau berasosiasi dengan inang, menjamin perbaikan dalam penggunaan pakan atau memperbaiki nutrisinya, memperbaiki respon inang terhadap penyakit, atau memperbaiki kualitas air lingkungan ambangnya.

Menurut Rengpipat dkk. (1998b) bahwa keberadaan probiotik di dalam saluran pencernaan udang dapat meningkatkan keseimbangan mikroba sehingga meningkatkan penyerapan pakan serta menekan jumlah patogen dalam saluran pencernaan. Gatesoupe (1999) diacu dalam Gullian dkk. (2004) menambahkan

bahwa keberadaan probiotik dalam saluran pencernaan dapat meningkatkan sintesa vitamin dan kofaktor yang mampu memaksimalkan aktivitas enzim pencernaan dalam saluran pencernaan.

Terdapat berbagai jenis bakteri yang biasa digunakan sebagai probiotik diantaranya *Bacillus coagulans* dan *Bacillus licheniformis* yang banyak ditemukan di alam. Pencarian bakteri dari alam di daerah sekitar budidaya perlu dilakukan karena dapat menjadi kandidat bakteri probiotik yang dapat tumbuh dan berkembang dengan baik. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Setyawan dkk. (2014) yang menggunakan isolat bakteri *Bacillus* sp. D2.2 sebagai kandidat probiotik diketahui bahwa isolat bakteri *Bacillus* sp. D2.2 mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V.harveyi* secara in vitro. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan kandidat probiotik berupa isolat bakteri *Bacillus* yang diisolasi dari berbagai sampel di kawasan hutan mangrove desa margasari lampung timur persyaratan yang harus dimiliki oleh mikroba probiotik antara lain adalah (Feliatra, 2002); 1) tidak bersifat patogen atau mengganggu inang, tidak bersifat patogen bagi konsumen (manusia dan hewan lainnya), 2) tidak mengganggu keseimbangan ekosistem setempat, 3) mikroba tersebut hendaklah dapat dan mudah dipelihara dan diperbanyak, 4) dapat hidup dan bertahan serta berkembang biak di dalam usus ikan, 5) dapat dipelihara dalam media yang memungkinkan untuk diintroduksikan ke dalam usus ikan, dan 6) dapat hidup dan berkembang di dalam air wadah pemeliharaan ikan.

Berdasarkan uraian tersebut maka perlu penggalian potensi isolat bakteri *Bacillus* sebagai kandidat probiotik penghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

B. Tujuan

Adapun tujuan penelitian ini untuk mendapatkan isolat bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* yang bersifat patogen sehingga dapat menanggulangi penyakit Vibriosis.

C. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai bakteri yang dapat menjadi probiotik untuk menanggulangi penyakit Vibriosis.

D. Kerangka Fikir

Probiotik adalah mikroba hidup yang menguntungkan pada mahluk hidup, yang bermanfaat untuk memperbaiki keseimbangan mikroba di dalam saluran penceraan dan memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan inangnya. Salah satu bakteri yang biasa dimanfaatkan sebagai probiotik adalah bakteri *Bacillus*, hal ini didukung oleh berbagai faktor salah satunya yaitu kemampuan menghasilkan senyawa ekstraseluler yang dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen seperti *Vibrio harveyi*.

Bakteri *Bacillus* dapat berkompetisi memperebutkan nutrisi dan ruang dengan bakteri *Vibrio harveyi* dengan mekanisme antagonis bakteri probiotik *Bacillus* yaitu antara lain: 1). Produksi senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan

bakteri *Vibrio harveyi* contohnya yaitu dengan menghasilkan senyawa antibakteri dan bakteriosin, 2). Kompetisi terhadap perebutan nutrisi, 3). Kompetisi untuk ruang adhesi.

Isolat bakteri *Bacillus* yang digunakan yaitu diantara nya *Bacillus* sp. UJ131, *Bacillus* sp. UJ132, *Bacillus* sp. UJ132, *Bacillus* sp. IP121, *Bacillus* sp. SB141, *Bacillus* sp. KPP212 diketahui mampu menghasilkan enzim Protease, selulase, dan xylanase sehingga dapat berkompetisi terhadap bakteri *Vibrio harveyi* dalam memperebutkan nutrisi. Kompetisi perebutan nutrisi tersebut dapat terjadi karena bakteri *Bacillus* mampu menghasilkan enzim xylose yang dapat memecah xylosa, sedangkan bakteri *Vibrio harveyi* tidak bisa menghasilkan enzim xylose sehingga xylosa hanya bisa dimanfaatkan oleh *Bacillus*. Bakteri *Vibrio harveyi* tidak dapat menghasilkan beberapa enzim yang sama dengan enzim yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus* (Buller, 2004).

E. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini yaitu ditemukan bakteri *Bacillus* yang dapat bermanfaat sebagai probiotik terhadap bakteri *Vibrio harveyi*

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Budidaya Udang

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang dikenal dengan nama udang putih merupakan spesies introduksi asal dari perairan Amerika Tengah dan negaranegara di Amerika Tengah dan Selatan seperti Ekuador, Venezuela, Panama, Brasil, dan Meksiko yang belum lama dibudidayakan di Indonesia. Beberapa tahun terakhir ini, komoditas yang berkontribusi utama pada sektor budidaya perikanan di Indonesia adalah udang putih. Udang vaname dirilis secara resmi pada tahun 2001 dan sejak itu peranan vaname sangat nyata menggantikan agroindustri udang windu (*Penaeus monodon*) yang merupakan udang asli Indonesia yang mengalami penurunan dan gagal produksi akibat faktor teknis maupun non teknis. Dipandang dari segi ekonomis, vaname merupakan jenis udang yang memiliki prospek ekonomis yang tinggi karena digemari banyak orang.

Darmono (1991) dan Maharani dkk. (2009) menambahkan bahwa udang merupakan salah satu bahan makanan sumber protein hewani bermutu tinggi yang sangat digemari oleh konsumen dalam negeri maupun luar negeri karena memiliki rasa yang sangat gurih dan kadar kolesterolnya yang lebih rendah dari pada hewan mamalia. Oleh karena itu, banyak para petani ikan dan

petambak Indonesia beralih ke vaname sehingga komoditas vaname bertumbuh pesat di Indonesia.

Udang merupakan salah satu komoditas perikanan yang memiliki prospek pasar yang sangat cerah. Permintaan pasar untuk ekspor terus mengalami peningkatan, bahkan harganya cendrung bergerak naik seiring dengan peningkatan nilai dolar. Oleh karena itu, pemerintah menetapkan udang sebagai salah satu komoditas yang dapat diandalkan dalam meningkatkan devisa dan perluasan lapangan kerja masyarakat (Dinas Perikanan dan Kelautan Kabupaten Serdang Bedagai, 2009).

Sejak tahun 1980-an sampai 1990-an produksi udang Indonesia menempati posisi yang cukup penting dalam perdagangan dunia terutama dalam ekspor udang. Selanjutnya, pada tahun 1990-an hingga sekarang produksi udang Indonesia sangat merosot karena adanya berbagai kendala. Dari semua kendala dalam budidaya udang di tambak, penyakit udang masih merupakan faktor pembatas terbesar yang menyebabkan turunnya produksi udang di Indonesia termasuk Sulawesi Selatan (Patang, 2007). Kerugian yang ditimbulkan oleh serangan penyakit pada udang diperkirakan mencapai 300 miliar rupiah per tahun untuk seluruh areal pertambakan di Indonesia.

Penyakit udang di tambak maupun hachery dapat terjadi karena penurunan kualitas air yang diikuti oleh keadaan kesehatan udang memburuk. Kondisi seperti ini tercipta sebagai akibat dari diterapkannya sistem budidaya secara intensif yang memlibatkan pemberian input yang telah melebihi daya dukung lingkungan. Dampak dari aktivitas ini menyebabkan gangguan pada

keseimbangan dinamika alami populasi mikroorganisme dan perubahan lingkungan dalam pemeliharaan udang. Hal ini adalah penyebab organisme pathogen, seperti parasit, bakteri, dan virus dapat berkembang dengan cepat sehingga menyebabkan timbulnya penyakit (Bakhtiar, 2004).

B. Bakteri *Vibrio* dan penyakit Vibriosis

Serangan penyakit dan penurunan kualitas lingkungan budidaya adalah salah satu masalah yang ada pada usaha pemberian udang. Salah satu penyakit udang yang dapat menyebabkan kematian pada udang adalah penyakit udang berpendar atau *luminescent vibriosis* yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi*. Bakteri ini dapat menyerang udang pada berbagai stadia yaitu nauplius, zoea, mysisis dan post larva di pemberian hingga udang dewasa pada tambak pembesaran (Saulnier dkk., 2000).

Vibriosis merupakan salah satu jenis penyakit infeksi yang sering menyerang organisme akuatik air laut seperti ikan dan udang. Penyakit ini pada umumnya disebabkan oleh anggota genus *Vibrio* (Munn, 1977), seperti *Vibrio harveyi*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus*, dan *Vibrio penaeicida* (Longyant dkk., 2008). *Vibrio harveyi* merupakan patogen dari genus *Vibrio* yang berasosiasi pada penyakit udang berpendar (Austin and Zhang, 2006).

Penyakit ini merupakan salah satu masalah yang paling serius dalam budidaya udang dan menjadi penghambat dalam keberlanjutan produksi. Bakteri *Vibrio* akan menyerang dengan merusak eksoskleton yang tersusun dari Kalsium Karbonat (CaCO_3), karbohidrat, dan protwin, selain itu bakteri ini dapat

menyerang melalui insang, dan saluran pencernaan udang. Bagian utama pada tubuh udang yang akan terkena bakteri *Vibrio harveyi* adalah organ dalam. Gejala umum yang muncul pada penyakit Vibriosis di udang, seperti warna tubuh kemerahan, anoreksia, lemah dalam pergerakannya, bereang ke pinggir, kemudian diikuti oleh gejala berupa hepatopankreas terlihat mengalami perubahan warna menjadi kecoklat-coklatan, geripis dibagian ekor dan kaki renang, karapas udang akan kosong, dan pada tingkat seranganparah hepatopankreas menjadi warna coklat kehitaman, serta pada malam hari akan terlihat menyala. Kondisi hepatopankreas yang telah mengalami penyusutan dan penghancuran tidak bisa berfungsi secara normal. Hal ini menyebabkan udang menjadi lemah dan kemudian mati (Rozik, 2014).

Chanratchakool dkk. (1994) dan Lightner dkk. (1992) menyatakan bahwa fluktuasi pH, tingkat oksigen, temperatur, salinitas, kadar amonia, dan sulfat, serta bahan-bahan organik yang lain dapat menyebabkan stress pada udang dan memicu terjadinya penyakit. Namun, peningkatan jumlah bakteri *Vibrio sp.* tetap menjadi penyebab utama timbulnya penyakit pada air pembesaran udang di kolam. Penerapan manajemen lingkungan adalah salah satu langkah efektif yang dapat ditempuh untuk mencegah penularan dan penyebaran penyakit di tambak budidaya ikan maupun udang, sebab tingkat kesehatan ikan dan udang adalah faktor yang sangat menentukan dalam usaha budidaya (Rosenberry, 1997).

Vibrio harveyi merupakan jenis mikroflora normal yang umumnya ditemukan pada air laut. Jenis bakteri ini dapat ditemukan dari berbagai tempat dalam hatchery pemberian udang misalnya sumber air laut; bak pemeliharaan

naupli, zoea, mysis, dan pascalarva; bak pematangan gonad; bak pemijahan induk (Chrisolite dkk., 2008). Patogen ini juga dapat ditemukan di udang sehat dan sedimen. *Vibrio harveyi* pada konsentrasi > 104 cfu/ml dapat menyebabkan kematian pada udang windu (*Penaeus monodon*) yang diinfeksi melalui teknik 21 penyuntikan intramuskular, sedangkan pada konsentrasi $> 106 - 107$ cfu/ml dapat menyebabkan kematian pada udang vaname (*Litopenaeus vaname*) melalui infeksi dengan teknik perendaman selama 2 jam (Saulnier dkk., 2000).

V. harveyi pada umumnya memiliki sifat patogen oportunistik, yaitu organisme yang pada keadaan normal ada dalam lingkungan pemeliharaan dan berkembang dari sifat saprofitik menjadi patogenik apabila kondisi lingkungan dan inang memburuk. Ketika terjadi wabah, populasi bakteri ini dapat menjadi ribuan kali dalam wadah pemeliharaan larva, dan hal ini dapat terjadi setelah budidaya udang windu berkembang secara intensif (Lavilla-Pitogo dkk., 1990).

Pada sistem budidaya udang, *V. Harveyi* dapat ditemukan di hatchery, dapat diisolasi dari air laut yang masuk, induk, larva, dan air tank pembesaran larva (Otta dkk. 2001; Prayitno dkk. 1995).

Ciri-ciri morfologi dan fisiologi dari bakteri *V. harveyi* pada media nutrient agar (NA) dengan NaCl 1.5 % dan sweater complete agar (SWC-agar) yaitu: bentuk koloni bulat dengan elevasi cembung, berwarna krem, berdiameter 2-3 mm setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28 $^{\circ}$ C. Pada medium selektif untuk genus *Vibrio* yaitu TCBS (Tiosulfate Citrate Bile-Salt Sucrose), koloni

V. harveyi berwarna hijau dan berpendar bila diamati diruangan gelap (Lavilla-Pitogo dkk., 1990).

Telah banyak upaya yang dilakukan untuk mengatasi masalah penyakit vibriosis dengan salah satunya yaitu dengan menambahkan antibiotik (Karunasagar dkk., 1994). Penggunaan antibiotik memiliki dampak negatif karena dapat mengakibatkan *Vibrio harveyi* menjadi resisten terhadap antibiotik. Rukyani dkk. (1992) memberikan kesimpulan bahwa beberapa galur *V. harveyi* yang menyebabkan penyakit kunang kunang telah resisten terhadap berbagai jenis antibiotik seperti penicillin, erytromycin, kanamycin, oxytetracycline, polymixin, dan streptoycin. Selain itu juga pemakaian antibiotik ini tidak efektif lagi karena dapat membawa dampak negatif terhadap daya tahan dan pertumbuhan udang (Kordi, 2004).

Antibiotik secara selektif menghambat, membunuh dan merusak organisme patogenik tanpa membahayakan organisme yang diperlakukan. Bakhtiar (2004) menyatakan bahwa bakteri *Vibrio sp* yang menyerang udang windu terdiri dari berbagai spesies yaitu *Vibrio albensis*, *V. Fisher*, *V. Harveyi*, dan *V. Splendidus*. Usaha untuk mencegah bakteri tersebut dapat dilakukan dengan memperhatikan mutu benur yang digunakan, penggunaan pakan yang cukup mengandung vitamin, meningkatkan kekebalan tubuh udang.

Salah satu alternatif dalam upaya pengendalian penyakit *Vibrio harveyi* pada udang windu tanpa menggunakan antibiotik adalah pemberian probiotik sebagai peningkat kadar antibodi dan peningkatan aktivitas enzim pencernaan. Bakteri probiotik mampu melakukan pelekatan di mukosa usus

dan memberikan perlindungan optimal, sehingga menghalangi pelekanan bakteri patogen. Pada budidaya udang, penggunaan probiotik pada pemeliharaan kultur larvae telah berhasil menurunkan insiden serangan infeksi bakteri (Irianto, 2003).

C. Probiotik

Dalam bahasa latin probiotik berarti “ untuk kehidupan “ disebut juga “ bakteri menguntungkan, “ bakteri baik “, atau “ bakteri sehat “ yang apabila didefinisikan secara lengkap. Probiotik adalah produk yang tersusun oleh mikroba atau pakan alami mikroba yang bersifat menguntungkan dan memberikan dampak bagi peningkatan keseimbangan mikroba saluran usus hewan inangnya (Irianto, 2003). Mengkonsumsi probiotik secara teratur dapat meningkatkan kesehatan, karena bakteri probiotik dapat hidup dalam usus sehingga flora normal dalam usus dapat seimbang.

Probiotik merupakan mikroba hidup yang menguntungkan bagi mahluk hidup, yang bermanfaat untuk memperbaiki keseimbangan mikroba di dalam saluran penceraan dan memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan inangnya (Afrianto dan Lifiawati, 2005). Bakteri yang dapat memproduksi substansi yang mirip antibiotik dan mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen dan dapat digunakan untuk mengurangi penggunaan antibiotik dalam budidaya ikan yang tidak meninggalkan residu yang berbahaya.

Mekanisme kerja probiotik yaitu sebagai berikut 1) menghasilkan asam, 2) menghasilkan bahan antimikroba (bakteriosin), 3) dapat berkembang biak dalam saluran pencernaan dan berkompetisi dengan bakteri patogen dan 4) mikroba probiotik berkompetisi dengan mikroba patogen untuk berikatan dengan reseptor yang sama (Lopez, 2000; Harish dan Varghese, 2006).

Pada saat memilih mikroorganisme yang akan dijadikan probiotik, persyaratan yang harus dimiliki oleh mikroba probiotik antara lain yaitu 1) tidak bersifat patogen atau mengganggu inang, tidak bersifat patogen bagi konsumen (manusia dan hewan lainnya), 2) tidak mengganggu keseimbangan ekosistem setempat, 3) mikroba tersebut hendaklah dapat dengan mudah dipelihara dan diperbanyak, 4) dapat bertahan hidup serta berkembang biak di dalam usus ikan, 5) dapat dipelihara dalam media yang memungkinkan untuk diintroduksikan ke dalam usus ikan, dan 6) dapat hidup dan berkembang di dalam air wadah pemeliharaan ikan atau udang (Feliatra dkk., 2004).

Efektivitas penggunaan bakteri probiotik untuk mengendalikan mikroorganisme patogen sangat dipengaruhi oleh jenis bakteri yang digunakan (Moriarty 1999; Verschuere dkk., 2000; Suprapto 2005). Hal ini disebabkan karena kehidupan bakteri sangat dipengaruhi oleh lingkungan. Populasi bakteri pada lingkungan dengan kandungan nutrien dan fisika-kimia yang berbeda, secara umum akan berbeda pula. Kriteria lain yang harus dipenuhi untuk menjadikan mikroorganisme tertentu sebagai probiotik yaitu kepastian bahwa mikroorganisme tersebut tidak patogenik dan menghasilkan senyawa yang bersifat toksik bagi hewan yang dipeliharanya (Fuller, 1989;

Farzanfar, 2006). Bakteri probiotik yang diisolasi dari lingkungan budidaya tambak diharapkan memiliki keunggulan-keunggulan tertentu jika dibanding dengan bakteri probiotik yang diisolasi dari sumber lain. Hal ini dikarenakan bakteri yang diisolasi dari tambak dan dikembalikan ke tambak diharapkan akan lebih mudah beradaptasi dan berkembang biak, serta melaksanakan peranannya sebagaimana mestinya (Muliani dkk., 2008).

D. Bakteri *Bacillus* sp

Bacillus sp merupakan bakteri berbentuk batang, tergolong bakteri gram positif, motil, menghasilkan spora yang biasanya resisten pada panas, bersifat aerob (beberapa spesies bersifat anaerob fakultatif), katalase positif, dan oksidasi bervariasi. Tiap spesies berbeda dalam penggunaan gula, sebagian melakukan fermentasi dan sebagian tidak (Barrow, 1993). Ditambahkan Claus & Barkeley (1986) genus *Bacillus* mempunyai sifat fisiologis yang menarik karena tiap-tiap jenis mempunyai kemampuan yang berbeda-beda, diantaranya : (1) mampu mengdegradasi senyawa organik seperti protein, pati, selulosa, hidrokarbon, dan agar; (2) mampu menghasilkan antibiotik; (3) berperan dalam nitrifikasi dan dentrififikasi; (4) pengikat nitrogen; (5) bersifat khemolitotrof, aerob atau fakultatif anaerob, asidofilik, psikoprifilik, atau thermofilik. Menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8 th editions dalam Hadioetomo (1985) klasifikasi *Bacillus* spp. adalah sebagai berikut:

Kingdom : Prokaryotae

Divisi : Bacteria

Kelas : Schizomycetes

Bangsa : Eubacteriales

Suku : Bacillaceae

Marga : *Bacillus*

Jenis : *Bacillus* sp.

Bakteri *Bacillus* sp. Sudah banyak digunakan dalam dunia akuakultur sebagai probiotik maupun biokontrol. Seperti penelitian yang telah dilakukan oleh Muhammad (2013) yang menggunakan *Bacillus* sp sebagai probiotik diketahui bahwa bakteri tersebut merupakan salah satu bakteri gram positif yang memiliki sifat menguntungkan bagi inang, karena dapat meningkatkan respon imun dan resisten terhadap infeksi bakteri patogen, serta dapat meningkatkan performa pertumbuhan (Buruina dkk., 2014; rajikkannu dkk., 2015; Danalakshmi dkk., 2015).

Bakteri *Bacillus* sangat cocok digunakan karena tidak menghasilkan toksin, mudah ditumbuhkan, tidak memerlukan substrat yang mahal, memiliki kemampuan untuk bertahan pada temperatur tinggi, dan tidak adanya hasil samping metabolismik. Bakteri *Bacillus* merupakan jenis bakteri yang terdapat di hampir semua tempat (Susanti, 2002).

E. Bakteri Antagonis

Antagonisme suatu mikroorganisme adalah salah satu hubungan interaksi antara sesama mikroorganisme atau antara mikroorganisme dengan

mikroorganisme yang sangat kompleks. Pemanfaatan bakteri antagonis agen biokontrol akan semakin penting dari segi ekosistem akuakultur, mengurangi dan bahkan menghilangkan penggunaan antibiotik, sehingga tercipta sistem budidaya yang ramah lingkungan dan mempersiapkan suatu sistem akuakultur organik yang isunya akhir-akhir ini semakin kuat (Isnansetyo, 2005).

Mikroorganisme bersifat antagonis terhadap mikroorganisme lain karena menghasilkan antibiotik, bakteriosin, siderofor, lisozim, protease, H_2O_2 atau asam organik sehingga pH pada media tumbuh tersebut berubah (Sugita dkk., 1997). Suatu bakteri antagonis dapat menghasilkan senyawa tunggal atau beberapa senyawa tersebut. Selanjutnya Verschuere dkk. (2000) mengemukakan bahwa mekanisme bakteri antagonis yang dapat digunakan sebagai biokontrol adalah menghasilkan senyawa penghambat pertumbuhan patogen, terjadi kompetisi pemanfaatan senyawa tertentu atau kompetisi pemanfaatan energi, kompetisi tempat menempel, mempertinggi tanggap kebal inang, meningkatkan kualitas air dan adanya interaksi dengan fitoplankton atau zooplankton.

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini di laksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Waktu pelaksanaannya adalah pada bulan Januari-April 2018.

B. Alat Dan Bahan

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, inkubator, petridisk, tabung reaksi dan raknya, autoclave, jarum ose, beker glass, gelas ukur, lampu bunsen, timbangan analitik, hot stirer plate, laminar air flow, kapas, kain kasa, oven, vortex, colony counter, mikroskop, erlenmeyer, pipet volume, bulp, gelas obyek, aluminium foil, drigalski, dan mikropipet. Sedangkan bahan yang digunakan antara lain berupa, isolate bakteri *vibrio harveyi* dan *Bacillus sp*, thiosulfate citrate bile salt sucrose (TCBS), SWC (Sea Water Completed : 5 g Baktopepton, 3 ml Gliserol, 1 g ekstrak Khamir, 750 ml air laut, 250 ml aquades, dan 15 g agar) alkohol, aquadest, agar.

C. Metode

Penelitian ini dilaksanakan dengan metode eksperimental laboratorium. Uji tantang dilakukan menurut metode Vaseeharan dan P. Ramasamy (2003) yang dimodifikasi. Hasil data uji kompetisi yang didapatkan yaitu luas zona jernih dan jumlah sel bakteri *Vibrio harveyi* dan *Bacillus* sp. Data yang diperoleh akan disajikan dalam bentuk deskriptif yang didukung oleh gambar dan tabel.

A. isolat Bakteri

Isolat bakteri *Bacillus* yang digunakan adalah 5 isolat koleksi Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Lampung yaitu isolat bakteri *Bacillus* sp. UJ131, *Bacillus* sp. UJ132, *Bacillus* sp. IP121, *Bacillus* sp. KPP212, dan *Bacillus* sp. SB141. Untuk isolat bakteri *Vibrio harveyi* didapatkan dari PT. Centra Proteina Prima Disease Research Center Departement.

B. Kompetisi Bakteri *Bacillus*

Media SWCA (Sea Water Completed Agar : 5 g baktopepton, 1 g ekstrak khamir, 3 ml gliserol, 750 ml air laut, 250 ml aquades, dan 15 g agar) yang sudah steril dituang kedalam cawan kemudian ditunggu hingga memadat. Isolat bakteri *Bacillus* sp. UJ131 diambil menggunakan tusuk gigi steril dan dititikkan ke media SWCA. Kemudian, isolat bakteri *Bacillus* sp. UJ132 diambil menggunakan tusuk gigi steril lalu dititikkan bersebelahan dengan isolat *Bacillus* sp. UJ131 dan diberi jarak 1cm. Selanjutnya, dilakukan perlakuan yang sama untuk isolat *Bacillus* sp. UJ131 dan *Bacillus* sp. IP121, *Bacillus* sp. UJ131 dan *Bacillus* sp. KPP212, *Bacillus* sp. UJ131 dan

Bacillus sp. SB141, *Bacillus* sp. UJ132 dan *Bacillus* sp. IP121, *Bacillus* sp. UJ132 dan *Bacillus* sp. KPP212, *Bacillus* sp. UJ132 dan *Bacillus* sp. SB141, *Bacillus* sp. IP121 dan *Bacillus* sp. KPP141, *Bacillus* sp. IP121 dan *Bacillus* sp. SB141, *Bacillus* sp. KPP212 dan *Bacillus* sp. SB141 kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam dan di amati pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus* yang tumbuh (Gambar 4) (Vaseeharan dan Ramasamy, 2003).

C. Uji Kompetisi

Bakteri *Bacillus* sp. UJ131, *Bacillus* sp. UJ132, dan *Bacillus* sp. IP121 diinokulasi ke dalam masing-masing tabung berisi media SWC cair, diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Bakteri *Bacillus* yang sudah berumur 24 jam diusap di media SWCA menggunakan stik yang diberi kapas, diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Bakteri *vibrio* diusapkan pada media SWCA menggunakan tusuk gigi steril yang diberi kapas. Kultur bakteri *Bacillus* yang sudah berumur 48 jam diambil agar beserta media dan biakan menggunakan mikrotipe steril kemudian diletakkan di media SWCA yang sudah diusap bakteri *Vibrio* berumur 24 jam, diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang kemudian di amati zona zernih yang terbentuk (Gambar 5) (Vaseeharan dan Ramasamy, 2003).

D. Uji Kultur Bersama

Bakteri *Bacillus* sp. UJ131, *Bacillus* sp. UJ132, dan *Bacillus* sp. IP121, dan bakteri *Vibrio* diinokulasi ke dalam masing-masing tabung berisi

media SWC cair kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Bakteri *Bacillus* UJ131 dengan kerapatan sel 10^5 sel/ml dan bakteri *Vibrio* dengan kerapatan sel 10^4 sel/ml diinokulasi kedalam media SWC cair sebagai perlakuan (Gambar 7) dan Bakteri *Bacillus* dengan kerapatan sel 10^5 sel/ml diinokulasikan kedalam media SWC cair sebagai kontrol *Bacillus* (gambar 6), lalu digoyang menggunakan Orbital Shaker selama 24 jam demikian juga dilakukan untuk kontrol *Vibrio*.

Setelah biakan berumur 24 jam (1 hari) dilakukan pengenceran sampai tingkat pengenceran 10^{-9} untuk perlakuan dan pengenceran sampai tingkat 10^{-3} untuk kontrol, biakan dari pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} disebar kedalam media TCBSA sebagai perlakuan untuk menghitung jumlah koloni *Vibrio harveyi* yang tumbuh, biakan dari pengenceran 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} disebar kedalam media SWCA sebagai perlakuan untuk menghitung jumlah koloni *Bacillus* yang tumbuh. Dilakukan hal yang sama untuk bakteri *Bacillus* sp. UJ132 dan *Bacillus* sp. IP121 (Gambar 6).

Tabel 1. Perlakuan Percobaan Kultur Bersama

Perlakuan	<i>Bacillus</i> sp. (sel/ml)	<i>Vibrio harveyi</i> (sel/ml)
A (<i>Bacillus</i> sp. UJI131 VS <i>Vibrio harveyi</i>)	10^5	10^4
B (<i>Bacillus</i> sp. UJI132 VS <i>Vibrio harveyi</i>)	10^5	10^4
C (<i>Bacillus</i> sp. IP121 VS <i>Vibrio harveyi</i>)	10^5	10^4
D (<i>Vibrio harveyi</i>)	-	10^4
E (<i>Bacillus</i> sp. UJI131)	10^5	-
F (<i>Bacillus</i> sp. UJI 132)	10^5	-
G (<i>Bacillus</i> sp. IP121)	10^5	-

Penentuan jumlah sel bakteri *Bacillus* dan *Vibrio harveyi* dilakukan secara langsung di bawah mikroskop dengan cara mengambil 0,1 ml suspensi bakteri kemudian ditambahkan ke dalam 0,9 ml aquades steril dan dihomogenkan dengan vortex mixer selama 1-2 menit, sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} . Dari pengenceran 10^{-1} diambil 0,1 ml suspensi bakteri, kemudian diletakkan diatas gelas objek yang berukuran 1mm x 1mm dan dilakukan pengecatan Gram.

Perhitungan jumlah sel bakteri secara langsung dilakukan dengan melihat dan menghitung jumlah sel pada luas lapang pandang mikroskop. Penentuan luas lapang pandang mikroskop dilakukan dengan mengukur diameter areal pandang mikroskop menggunakan mikrometer objektif yang mempunyai 25 skala terkecil 0,01 mm. Setelah nilai diameter areal pandang mikroskop diketahui, kemudian di bagi 2 untuk mencari jari-jari dan dimasukkan ke rumus berikut :

$$\begin{aligned} \text{Luas areal pandang mikroskop} &= \pi r^2 \text{ mm}^2 \\ &= \pi r^2 \times 10^{-2} \text{ mm}^2 \end{aligned}$$

Di mana r = jari-jari areal pandang mikroskop dalam cm. Rumus penentuan perhitungan jumlah sel bakteri secara langsung yaitu sebagai berikut

$$\text{Konsentrasi Sel} = \frac{x}{\text{Luas lapang pandang mikroskop (mm}^2\text{)} \times t(\text{mm})}$$

V. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pada uji bakteri *Bacillus* tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* pada hari kedua dan pada percobaan kultur bersama bakteri *Bacillus* menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* pada hari keempat.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, E. dan E. Liviawaty. 2005. *Pakan Ikan*. Kanisius, Yogyakarta.
- Agustina, D.T., S. Marnani,, dan A. Irianto. 2006. Pengaruh Pola Pemberian Probiotik A3- 51 per Oral Terhadap Kelangsungan Hidup Bawal Air Tawar (*Collosoma macropomum* Bry.) Setelah Diuji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Skripsi*. Universitas Jenderal Soedirman
- Austin, B., dan X.H. Zhang. 2006. *Vibrio harveyi: a significant pathogen of marine vertebrates and invertebrates*. Letters in Applied Microbiology 43(2):119- 124 DOI: 10.1111/j.1472-765X.2006.01989.x
- Babu, D., J.N. Ravuru, dan Mude. 2014. Effect of Density on Growth and Production of *Litopenaeus vannamei* of Brackish Water Culture System in Summer Season with Artificial Diet in Prakasam District, India. *American International Journal of Research in Formal, Applied, & Natural Sciences*. 5(1):10-13.
- Bakhtiar. 2004. Efektifitas Penggunaan Antibiotik Untuk Mengontrol Penyakit Bakteri *Vibrio harveyi* pada Pasca Larva Udang Windu *Penaeus monodon* Fabricius. *Tesis*. Program Pascasarjana. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Barrow, G.I., dan R.K. A. Feltham. 1993. *Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria Third Edition*. Syndicate of the University of Cambridge: United Kingdom.
- Buruina, C.T., A.G. Profir, dan C. Vizireanu. 2014. EFFECTS OF PROBIOTIC BACILLUSSPECIES IN AQUACULTURE- AN OVERVIEW. *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI-Food Technology*, 38(2): 9-17.
- Chanratchakool, P., J.F. Turnbull, dan C. Limsuwan. 1994. *Health Management in Shrimp Ponds*. Aquatic Animal Health Research Institute, Thailand
- Chrisolite, B., S. Thiagarajan, S.V. Alavandi, E.C. Abhilash, N. Kalaimandi, K.K. Vijayan, dan T.C. Santiago. 2008. *Distribution of Luminescent Vibrio harveyi and Their Bacteriophages in a Commercial Shrimp Hatchery in South India*. *Aquaculture* 275: 13–19.

- Claus, D. dan R.C.W. Berkeley. 1986. *Genus Bacillus Cohn 1872, 174*. In Sneath, P. H. A., (ed.) Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2, Williams and Wilkins, Baltimore, 1105-1139.
- Darmono. 1991. Budidaya *Udang Peneaus*. Kanisius. Yogyakarta.
- Debnath, D.N.P. 2005. *Present Scenario and Future Prospect of Phtase in Aquafeed (Review)*. Asian-Aust. J. Anim.Sci. 18(12): 1.800-1.812.
- Dhanalakshmi, G. Reniprabha, A., dan Chandarakala, A. 2015. Studies on The Effcet of Commercial Probiotic Application in Them Growthof The Fish, *Cyprinuscarpio*.*International Journal of Advanced Research*, 3(8),708-712.
- Dinas Perikanan dan Kelautan Kabupaten Serdang Bedagai, 2009. *Data Base Perikanan dan Kelautan Kabupaten Serdang Bedagai*. Dinas Kelautan dan Perikanan Kabupaten Serdang Bedagai. Sei Rampah.
- Farzanfar, A. 2006. *The use of probiotics in shrimp aquaculture*. FEMS Immunolgy Medical Microbiology 48: 149–158.
- Feliatra, I.E. dan E. Suryadi. 2004. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (Ephinephelus fuscoguttatus) Dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan*. Jurnal Natur Indonesia. ISSN 1410- 9379.
- Fuller, R. 1989. *A review, Probiotics in man and animals*. *Journal of Applied Bacteriology* 66 : 365 – 378.
- Gatesoupe, F. 1999., A Review: The Use of Probiotic in Aquaculture. *Aquaculture* 180: 147-165.
- Hadioetomo, R.S. 1985. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Gramedia. Jakarta.
- Haditomo. 2016. Studi *Bacillus firmus* Sebagai Kandidat Probiotik Dalam Menghadapi *Aeromonas hydrophila* Pada Media Budidaya. *Journal Of Fisheries Science and Technology*.
- Harish, K. dan T. Varghese. 2006. Probiotics in humans - evidence based review. *Calicut Medical Journal*. 4 (4). e3.
- Heidarieh, M., M. Afsharnasab, M. Soltani, Dashtyannashab, S. Rajabifar, N. Sheikhzadeh, dan A.H. Tamimi. 2010. Effect of ergosan and vibromax to prevent vibriosis and WSSV in *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Fisheries and Aquatic Science* 5, 120-125
- Hikmayani, Y., M. Yulisti, dan Hikmah. 2012. Evaluasi Kebijakan Peningkatan Produksi Perikanan Budidaya. *Jurnal Kebijakan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan*. 2(2): 85- 102.

- Isnansetyo, A., I. Istiqomah, Muhtadi, S. Sinansari, R.K. Hernawan, Triyanto dan J. Widada. 2009. A potential bacterial biocontrol agent, strain S2V2 against pathogenic marine Vibrio in aquaculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25: 1103-1113
- Irianto, A. 2003. *Probiotik Akuakultur*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Jayaprakash, N.S., S.S. Pal., R. Philip., dan I.S.B. Singh. 2006. Isolation of a Pathogenic Strain of *Vibrio alginolyticus* From Necrotic Larvae of *Macrobachium rosenbergii* (de Man). *J. of Fish Diseases* 29: 187-191.
- Karunasagar, I. 1994. *Mass Mortality of Penaeus Monodon Larvae due to antibiotic-resistant Vibrio harveyi infection*. Aquaculture, 128: 203-209.
- Kordi, K., 2004. *Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan*. Rineka Cipta dan Bina Adiaksa. Jakarta.
- Kurniawati, N. 2012. Uji Kontak Bacillus Dengan Mikroba Ragi Tapai Pada Media Pakan Ayam Dan Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan *Salmonella* Sp. dan *Escherichia Coli* (Penerapan Model Problem Based Learning Pada Materi Kompetisi Bakteri Kelas X Sma Di 3 Sekolah Bandar Lampung Semester Ganjil Tahun Ajaran. Skripsi Jurusan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Lampung. Lampung,
- Lavilla-Pitogo, C.R., L.L. Baticados, E.R. Cruz Laciera and L.D. de la Pena. 1990. Occurrence of luminous bacterial diseases of *Penaeus monodon* larvae in the Philippines. *Aquaculture*. 91:1-13.
- Lightner, D.V., T.A. Bell., R.M. Redman., L.L. Mohney., J.M. Natividad., A. Rukyani., and A. Poernomo. 1992. *A Review of Some Major Disease of Economic Significance in Penaeid Prawns / Shrimp of the Americans and Indopacific*. Proceedings of the First Symposium on Disease in Asian Aquaculture Bali, Indonesia
- Longyant, S., S. Rukpratanporn, P. Chaivisuthangkura, P. Suksawad, C. Srisuk, W. Sithigorngul, S. Piyatiratitivorakul, and P. Sithigorngul. 2008. Identification of *Vibrio* spp. in Vibriosis *Penaeus vannamei* Using Developed Monoclonal Antibodies. *Journal of Invertebrate Pathology*, 98: 63-68
- Lopez, J. 2000. *Probiotics In Animal Nutrition*. Asian-Aust J Anim Sci. 13. special issue:12- 26.
- Maharani, G., Sunarti., Triastuti., J. Juniastuti dan Tutik. 2009. Kerusakan dan Jumlah Hemosit Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.) yang Mengalami Zoothamniosis. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 1 (1): 21- 29.

- Maketon, M. dan K. Masawhang. 2000. *Potential of some beneficial bacteria in colonizing Vibrio harveyi, a luminous bacteria causing disease in shrimp*, pp. 259-268. In The Proceedings of 38th Kasetsart University Annual Conference. Kasetsart University, Bangkok.
- Moriarty, D.J.W. 1999. Disease control in shrimp aquaculture with probiotic bacteria. Proceeding of the 8th International Symposium on Microbial Ecology, Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax: 7 hlm.
- Muhammad, A. 2013. *Aplikasi probiotik dengan dosis berbeda untuk pencegahan infeksi IMNV (Infectious Myonecrosis Virus) pada udang vaname Litopenaeus vannamei*. Skripsi: IPB.
- Muliani., S. Suwanto., dan Y. Hala. 2008. Isolasi dan karakterisasi bakteri asal laut Sulawesi untuk biokontrol penyakit Vibriosis pada larva udang windu (Penaeus monodon Fab.). *Jurn. Hayati* Vol. 10 (1):6-11
- Munn, E.A . 1997 . Rational design of nematode vaccines : hidden antigens. *International Journal Parasitology* 27:359-366
- Otta S.K., I. Karunasagar. 2001. Bacteriological Study of Shrimp Penaeus monodon Fabricius, Hatcheries In India. *J Appl Ichthyology* 17 (2): 59-63.
- Patang. 2007. Analisis Ekonomi Pembantutan Tokolan Udang Windu dalam Meningkatkan produksi dan Pendapatan Petani Tambak di Sulawesi Selatan. *Disertasi*. Program Pascasarjana Universitas Hasanudin. Makasar.
- Prayitno, S.B., J.W. Latchford .1995. Experimental Infections of Crustaceans with Luminous Bacteria Related to Photobacterium and Vibrio. Effect of Salinity and pH on Infectiosity. *Journal of the World Aquaculture Society*. 132(4): 467-545
- Purivirojkul, W. 2006. Competition on Using Nutrient for Growth between *Bacillus* spp. and *Vibrio harveyi*. , *Journal of Department of Zoology, Faculty of Science, Kasetsart University Thailand*.
- Rajikkannu, M., N. Natarajan., P. Santhanam., B. Deivasigamani., J. Ilamathi. and Janani S. (2015). Effect of Probiotics on The Haematological Parameters of Indian Major Carp (*Labeo rohita*). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2(5), 105-109
- Rosenberry, B. 1997. *World Shrimp Farming*. Annual Report. Shrimp News International, San Diego, California, USA. 164 hal
- Rozik, M. 2014. Pengaruh Imunostimulan OMP terhadap Histopatologi Hepatopankreas Udang Windu (Penaeus monodon fabricus) pasca Uji Tantang dengan *Vibrio Harveyi*. *Journal of Tropical Fisheries*, 10 (1), 750-755.

- Ruangpan, L. and T. Kitao. 1991. Vibrio Bacteria Isolated from Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius. *J. Fish Disease*. Hal 383-388.
- Rukyani, A., P. Taufik dan Tauhid. 1992. Penyakit kunang-kunang (luminescensce vibrios) di hatchery udang windu dan cara penanggulangan penyakit benur di hatchery udang. *J. Litbang Pert.* 2:1 -17.
- Saulnier, D., Haffner, P., Goarant, C., Levy, P., Ansquer, D. 2000. Experimental infection models for shrimp vibriosis studies: a review. *Aquaculture* 191, 133- 144.
- Shailender, M., P.V. Krishna, S.B. Chand., B. Srikanth. 2012. Impact of Disease on the Growth and Survival of Giant Freshwater Prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) Larvae In the Hatchery Level. *World J.of Fish and Marine Sci.* 4(6):620-625.
- Singh, B.I. 1986. Studies on the Bacteria Associated with *Penaeus indicus* in a Culture System. Ph.D. Thesis. Cochin University of Science and Technology, Cochin, India, 230 pp.
- Sureshvvar, K., M. Jayakumar, M. Prakash. 2011. Pretentious investigation of bacterial flora associated with fresh water prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *Int. J. of Environ. Sci. and Ecotechnology* 1(1): 45-53.
- Susanti, E. 2002. *Isolasi dan karakterisasi protease dari Bacillus subtilis 1012M15*. Program Studi Kimia Jurusan FMIPA FKIP. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Tampangallo, B.R. dan Nurhidayah. 2010. Pemantauan populasi bakteri pada beberapa jenis rumput laut. *Prosiding seminar perikanan nasional*. Universitas Hang Tuah. Surabaya
- Vaseeharan, B. dan P. Ramasamy, 2003. *Control of pathogenic Vibrio spp. by Bacillus subtilis BT23, a possible probiotic treatment for black tiger shrimp Penaeus monodon*. *Lett Appl Microbiol.* 36: 83-7.
- Verschueren, L.G. Rombaut, P. Sorgeloos, dan W. Verstraete. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology review*. 274: 1 –14.