

Uji Tantang Bakteri *Bacillus* Kandidat Probiotik Secara *In Vitro* terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* Penyebab Penyakit pada Udang

SUMARDI*, SALMAN FARISI, CHRISTINA N. EKOWATI, RIZKA OKTAVIA

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, Bandar Lampung

Diterima: 26 Maret 2019 - Disetujui: 7 Agustus 2019
© 2019 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

This study aims to isolate *Bacillus* that can fight the growth of *Vibrio harveyi*. Based on the results of the inter-*Bacillus* competition test show that *Bacillus* isolates was able to compete and grow with each other on the media of Sea Water Completed Agar (SWCA). The challenge test *Bacillus* bacterial to against *Vibrio harveyi* bacteria, that *Bacillus* did not yet produce anti-bacteria on the second day. In the joint culture test method between *Bacillus* and *Vibrio harveyi* that *Bacillus* were able to inhibit the growth of *Vibrio harveyi* bacteria on the 4th day.

Key words: *Bacillus*, Probiotics, *Vibrio harveyi*.

PENDAHULUAN

Serangan penyakit dan penurunan kualitas lingkungan budidaya merupakan salah satu masalah yang timbul pada usaha budidaya pembenihan udang. Salah satu penyakit udang yang membahayakan adalah penyakit udang berpendar yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi* (Apriliani *et al.*, 2016). Bakteri *V. harveyi* dapat menyerang udang pada berbagai stadia yaitu mulai dari nauplius, zoea, mysis, dan post larva di pembenihan hingga udang dewasa di tambak perbesaran (Saulnier *et al.*, 2000). Bakteri tersebut menyerang organ hepatopancreas pada udang (Sarjito *et al.*, 2015).

Usaha untuk mengatasi masalah penyakit vibriosis salah satunya dengan menambahkan antibiotik (Karunasagar, 1994). Namun penggunaan antibiotik memiliki dampak negatif karena dapat mengakibatkan *V. harveyi* menjadi resisten terhadap antibiotik. Upaya yang lain yakni

dengan mengatur kadar garam di per-tumbuhan udang. Kadar garam yang terbaik untuk menekan pertumbuhan *V. harveyi* adalah 30 ppt (Utami *et al.*, 2016). Upaya lain yang terbaik pengendalian penyakit *V. harveyi* adalah pemberian probiotik. Pada budidaya udang, penggunaan probiotik dalam pemeliharaan kultur larva telah berhasil menurunkan insiden serangan infeksi bakteri (Muliani *et al.*, 2011). Pemberian probiotik ternyata dapat menaikkan retensi protein pada udang vaname sedangkan pada lemak tidak terjadi (Kurniawan *et al.*, 2016). Pemberian probiotik juga dapat meningkatkan produksi udang vaname (Susilowati *et al.*, 2017). Pemberian probiotik dari isolat mangrove ternyata dapat melawan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* patogen pada udang *Litopenaeus vannamei* (Fajriani *et al.*, 2018).

Pada penelitian Ghazali (2014) menunjukkan bahwa pemberian probiotik pada udang vaname menghasilkan tingkat kelangsungan hidup, laju pertumbuhan harian, rasio konversi pakan, dan biomassa yang lebih baik dibanding kontrol. Menurut Novitasari *et al.* (2017) pemberian probiotik *Bacillus* sp. D2.2 yang diberi molase mampu meningkatkan laju pertumbuhan dan rasio konversi pakan dibandingkan dengan

* Alamat korespondensi:

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, Jl. Prof.
Dr. Soemantri Brodjonegoro No. 1 Bandar Lampung
35145. E-mail: sumardi_bio@yahoo.co.id

perlakuan kontrol. Penambahan probiotik *Bacillus* ternyata juga dapat meningkatkan jumlah leukosit (Sumardi *et al.*, 2016).

Dosis terbaik probiotik *Bacillus* adalah 10^{12} sel/ml yang diaplikasikan di tambak budidaya udang vaname pola intensif dengan padat tebar 50 ekor/m² adalah 5 mg/L/minggu. Dosis tersebut mampu menghasilkan sintasan ($86,5\% \pm 4,2\%$) dan produksi udang vaname yang tinggi ($5934 \pm 62,90$ kg/ha/musim tanam), serta menghasilkan nilai konversi pakan yang lebih efisien (1,37). Dosis 3 mg/L menghasilkan pertumbuhan, sintasan, produksi terendah, dan nilai konversi pakan yang paling tidak efisien (Gunarto *et al.*, 2009). Berdasarkan karakterisasinya maka perlu penggalan potensi isolat tersebut sebagai kandidat probiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Lokasi Penelitian

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

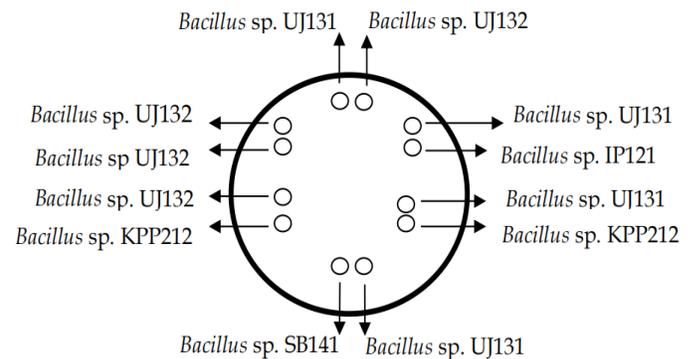
Bakteri *Bacillus* sp.

Kandidat probiotik yang akan digunakan pada penelitian ini adalah lima isolat bakteri *Bacillus* yang merupakan koleksi laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Lampung. Kelima isolat bakteri tersebut adalah *Bacillus* sp. UJ131, *Bacillus* sp. UJ132, *Bacillus* sp. IP121, *Bacillus* sp. SB141, *Bacillus* sp. KPP212. Lima isolat bakteri *Bacillus* tersebut mampu menghasilkan enzim protease, selulase, dan xylanase. Isolat bakteri *Bacillus* yang digunakan diisolasi dari hutan mangrove Desa Margasari Lampung Timur.

Uji Kompetisi Sesama Bakteri *Bacillus* sp.

Uji ini diperlukan untuk mengetahui apabila kelima jenis bakteri *Bacillus* sp. ditumbuhkan dalam tempat yang sama, ada yang terhambat atau tidak. Kalau ternyata ada koloni bakteri yang

terhambat maka tidak dapat digunakan sebagai probiotik. Media yang digunakan dalam uji kompetisi ini adalah media *sea water completed agar* (SWCA). Media SWCA mengandung: 5 g baktepepton, 1 g ekstrak khamir, 3 ml gliserol, 750 ml air laut, 250 ml aquades, dan 15 g agar. 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 disebelah isolat *Bacillus* sp. UJ131 dan diberi jarak 1 cm. Kemudian perlakuan yang sama juga dilakukan untuk isolat *Bacillus* sp. UJ131 dan IP121, UJ131 dan KPP212, UJ131 dan SB141, UJ132 dan IP121, UJ132 dan KPP212, UJ132 dan SB141, IP121 dan KPP141, IP121 dan SB141, KPP212 dan SB141. Biakan tersebut kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam dan amati pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus* sp. yang tumbuh (Gambar 1).



Gambar 1. Perlakuan uji kompetisi *Bacillus*.

Uji Kompetisi Bakteri *Bacillus* terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*.

Bakteri *Bacillus* sp. UJ13, *Bacillus* sp. UJ132, dan *Bacillus* sp. IP121 diinokulasi ke dalam masing-masing tabung berisi media SWC cair, kemudian diinkubasi selama 24 jam di suhu ruang. Bakteri *Bacillus* yang sudah berumur 24 jam diusap di media SWCA menggunakan stik yang diberi kapas kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Selanjutnya bakteri *Vibrio* diusapkan pada media SWCA menggunakan tusuk gigi steril yang diberi kapas. Bakteri *Bacillus* yang sudah berumur 48 jam diambil agar dan

Tabel 1. Perlakuan percobaan kultur bersama.

Perlakuan	<i>Bacillus</i> sp. (sel/ml)	<i>V. 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	-

Tabel 2. Hasil uji kompetisi *Bacillus*.

Perlakuan	Diameter koloni bakteri (mm)	
	I	II
<i>Bacillus</i> sp. UJ131 VS <i>Bacillus</i> sp. UJ132	18	11
<i>Bacillus</i> sp. UJ131 VS <i>Bacillus</i> sp. IP121	20	12
<i>Bacillus</i> sp. UJ131 VS <i>Bacillus</i> sp. KPP212	29	9
<i>Bacillus</i> sp. UJ131 VS <i>Bacillus</i> sp. SB141	17	10
<i>Bacillus</i> sp. UJ132 VS <i>Bacillus</i> sp. IP121	12	16
<i>Bacillus</i> sp. UJ132 VS <i>Bacillus</i> sp. KPP212	11	8
<i>Bacillus</i> sp. UJ132 VS <i>Bacillus</i> sp. SB141	14	7
<i>Bacillus</i> sp. UJ132 VS <i>Bacillus</i> sp. KPP212	20	7
<i>Bacillus</i> sp. IP212 VS <i>Bacillus</i> sp. KPP212	20	9
<i>Bacillus</i> sp. KPP212 VS <i>Bacillus</i> sp. SB141	10	10

biakannya menggunakan mikrotipe steril kemudian diletakkan di media SWCA yang sudah diusap bakteri *Vibrio* berumur 24 jam. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam di suhu ruang dan diamati zona jernih yang terbentuk.

Percobaan Kultur Bersama

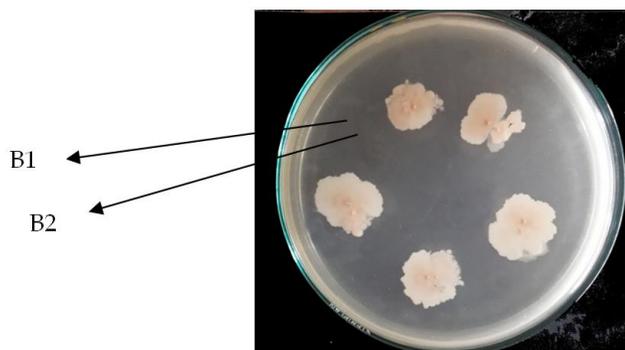
Bakteri *Bacillus* UJ131, *Bacillus* sp. UJ132, *Bacillus* sp. IP121, dan bakteri *Vibrio* diinokulasi ke dalam masing-masing tabung berisi media SWC cair kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Bakteri *Bacillus* UJ131 dengan kerapatan sel 10⁵ sel/ml dan bakteri *Vibrio* dengan kerapatan sel 10⁴ sel/ml diinokulasi ke dalam media SWC cair sebagai perlakuan Bakteri *Bacillus* dengan kerapatan sel 10⁵ sel/ml diinokulasikan ke dalam media SWC cair sebagai kontrol *Bacillus* lalu digoyang menggunakan *orbital shaker* selama 24 jam. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada *Bacillus* sp. UJ132 dan *Bacillus* sp. IP121, demikian

juga dilakukan pada kontrol *Vibrio* (Tabel 1). Setelah biakan berumur 24 jam masing-masing jenis bakteri dituang dengan metode taburan. Bakteri *Bacillus* Vs *Vibrio* dituang ke dalam media *Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose Agar* (TCBSA) untuk mengetahui jumlah koloni bakteri *Vibrio* yang tumbuh, dan bakteri *Bacillus* dituang di media SWCA untuk menghitung jumlah bakteri *Bacillus* yang tumbuh.

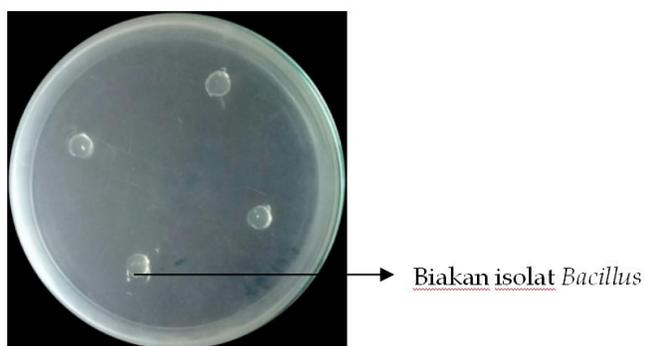
HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Kompetisi antar *Bacillus* spp.

Pada uji kompetisi *Bacillus* bakteri ber-kompetisi dan saling tumbuh. Pada uji kompetisi koloni bakteri *Bacillus* sp UJ131 tumbuh lebih besar daripada koloni bakteri *Bacillus* sp. UJ132, *Bacillus* sp. IP121, *Bacillus* sp. KPP212, dan *Bacillus* sp. SB141. *Bacillus* sp. IP121 tumbuh lebih besar



Gambar 2. Hasil uji kompetisi bakteri *Bacillus*.



Gambar 3. Kandidat probiotik yang tidak membentuk zona jernih.

dibandingkan dengan koloni *Bacillus* sp. UJ132, koloni bakteri *Bacillus* sp. UJ132 lebih besar dibandingkan dengan isolat *Bacillus* sp. KPP212 dan *Bacillus* sp. SB141, isolat bakteri *Bacillus* sp. IP121 lebih besar dibandingkan dengan isolat *Bacillus* sp. KPP212 dan *Bacillus* sp. SB141, dan isolat *Bacillus* sp. KPP212 dan *Bacillus* sp. SB141 ukuran koloni yang tumbuh sama yaitu sebesar 10 mm (Tabel 2).

Uji kompetisi sesama *Bacillus* dilakukan untuk mengetahui apakah antar *Bacillus* dapat saling membentuk zona penghambatan antibakteri. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa sesama *Bacillus* tidak saling membentuk zona penghambatan dan dapat saling tumbuh. Hasil tersebut menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus* dapat tumbuh berdampingan dan dapat hidup secara bersama sama. *Bacillus* tidak melakukan kompetisi perebutan nutrisi dan ruang antara sesama bakteri (Gambar 2). Hal ini terjadi pada penelitian Arwiyanto *et al.* (2007), yakni ada

probiotik *Bacillus* sp. yang tumbuh bersama tidak saling menghambat.

Kemampuan *Bacillus* yang tidak saling menghambat tersebut juga dapat terjadi karena adanya kerjasama isolat yang saling melengkapi dalam mendegrasi substrat untuk pertumbuhannya. Kemungkinan ini sejalan dengan penelitian Sahlan *et al.* (2014), yang melakukan uji konsorsium bakteri tanah untuk mendegradasi pestisida propoxur untuk pertumbuhannya. Kerjasama antar bakteri juga dibuktikan oleh penelitian Sumardi (2005). Hal tersebut terjadi ketika bakteri *Geobacillus stearothermophilus* L-07 ditumbuhkan dalam media bungkil sawit secara tunggal ternyata tidak tumbuh. Akan tetapi ketika bakteri *Geobacillus stearothermophilus* L-07 ditumbuhkan bersama dengan *Bacillus thermoleovorans* IT-08 ternyata keduanya hidup bersama.

Uji Kompetisi Bakteri *Bacillus* terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*

Uji kompetisi bakteri *Bacillus* sp. dengan bakteri *Vibrio harveyi* menunjukkan bahwa kelima isolat *Bacillus* tidak ada yang membentuk zona jernih, yang berarti tidak menghasilkan antibakteri (Gambar 3). Ketidakmampuan menghasilkan antibakteri kemungkinan disebabkan oleh media yang tidak cocok. *Bacillus* sp sebagai produksi antibakteri ditumbuhkan pada media SWCA.

Pada penelitian lain, seperti yang dilakukan oleh Vaseharan & Ramasamy (2003), *Bacillus subtilis* BT23 dapat menghasilkan antibakteri dengan menggunakan media Luria Bertani cair. Antibakteri tersebut dapat menghambat bakteri *Vibrio* spp. Pada penelitian Triandini & Suryadi (2018), menyatakan bahwa antibakteri *Bacillus lentus* diproduksi pada *nutrient broth*. Antibakteri tersebut menghambat bakteri Gram negatif (*Proteus mirabilis*). Penelitian Gao *et al.* (2017) menyatakan bahwa *Bacillus pumilus* H2 dapat menghasilkan antibakteri dengan menggunakan media cair Luria Bertani. Antibakteri yang dihasilkan dapat menghambat bakteri *Vibrio* sp. Sedangkan penelitian Awais *et al.* (2010), menyatakan bahwa *Bacillus subtilis* dapat menghasilkan antimikroba pada media sintetik dengan sumber nitrogen asam glutamat.

Antibiotik yang dihasilkan dapat menghambat bakteri *Micrococcus luteus* (ATCC#10240).

Kemenangan kompetisi dapat juga diakibatkan oleh sumber karbon probiotik *Bacillus*. Seperti yang dilakukan oleh Husaeni dan Sudarmayasa (2018) menyatakan bahwa sumber karbon dari tapioka memberikan pertumbuhan lebih baik dibandingkan sumber karbon yang lain (jagung dan dedak).

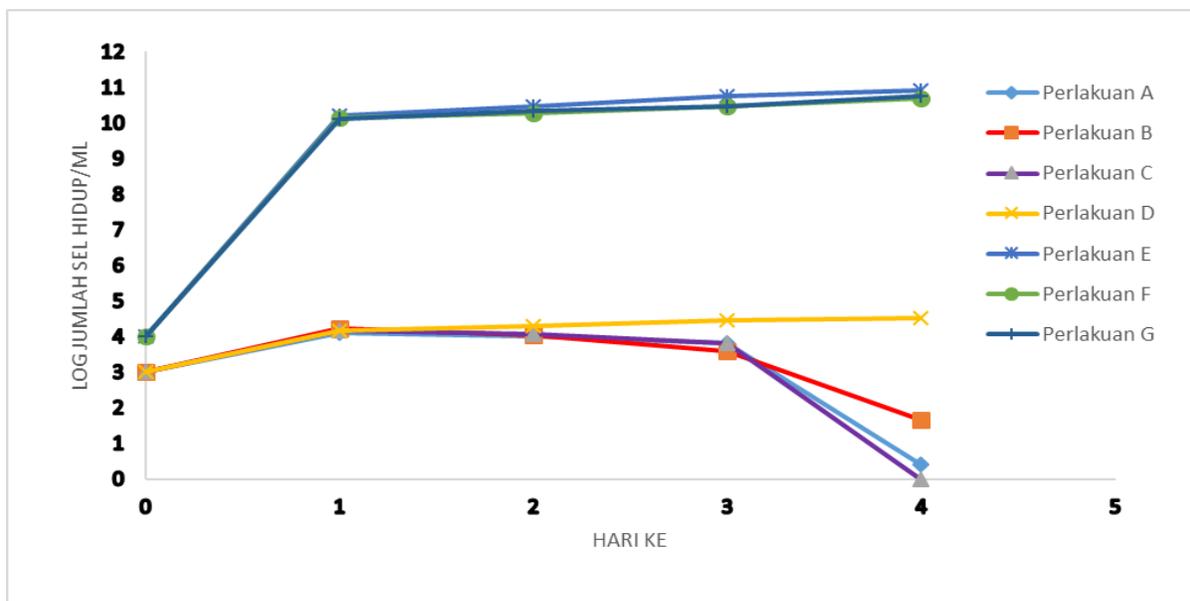
Koloni bakteri *Bacillus* juga tidak membentuk zona penghambatan terhadap bakteri *V. harveyi* pada pengamatan hari kedua pada metode uji kompetisi (Gambar 3). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus* pada hari kedua tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*.

Percobaan Kultur Bersama

Pada uji eksperimen kultur bersama menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus* dengan jumlah konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah konsentrasi bakteri *V. harveyi* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* pada hari keempat.

Pada metode uji kultur bersama (*Bacillus* + *V. harveyi*) bakteri *V. harveyi* tumbuh dari hari ke-0

sampai hari kesatu. Pada kondisi tersebut makanan masih tersedia cukup banyak dan belum terdapat senyawa metabolit sekunder atau racun lainnya. Pada inkubasi hari kedua dan ketiga bakteri *V. harveyi* relatif konstan pertumbuhannya, hal ini disebabkan makanan sudah berkurang sehingga jumlah bakteri *V. harveyi* yang tumbuh dan yang mati seimbang. Pada perlakuan kultur bersama dihari keempat bakteri *V. harveyi* tidak lagi tumbuh. Hal ini disebabkan makanan sudah tidak tersedia dan sudah ada senyawa metabolit sekunder atau racun yang bisa menyebabkan bakteri *V. harveyi* mati. Pada perlakuan kontrol, bakteri *Bacillus* dan *V. harveyi* yang ditumbuhkan secara terpisah keduanya masih menunjukkan pertumbuhan pada hari keempat. Dengan demikian maka bakteri *Bacillus* menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* di media cair pada hari keempat. Hal ini didukung oleh penelitian Vaseeharan dan Ramasamy (2003) bahwa pertumbuhan bakteri *V. harveyi* terkontrol oleh bakteri *Bacillus* BT23 baik secara *in-vitro* ataupun *in-vivo*, pada uji kultur bersama hasil penelitian yang di dapatkan yaitu bakteri *Bacillus* menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* pada hari keempat, aktivitas penghambatan *B. Subtilis* BT23



Gambar 4. Pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* dengan dan tanpa bakteri *Bacillus* dan pertumbuhan bakteri *Bacillus* sebagai kontrol.

meningkat seiring dengan meningkatnya pertumbuhan bakteri *B. Subtilis* BT23 tersebut. Setelah diinokulasi pada hari ke-0 sampai hari keempat pada kontrol uji kultur bersama bakteri *Bacillus* dan *V. harveyi* tumbuh relatif stabil, hal ini karena tidak terdapat kompetisi nutrisi dan ruang antar bakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Purivirojkul *et al.* (2006) menunjukkan bahwa *Bacillus subtilis* melakukan persaingan dalam pembentukan koloni terhadap bakteri *V. harveyi*. Pada penelitian lain terbukti bahwa probiotik *Bacillus* sp dan *Staphylococcus* sp dapat meningkatkan bobot benih ikan lele dumbo dan mengurangi bakteri *Aeromonas hydrophila* (Sya'bani *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pada uji kompetisi 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

- Apriliani, M., Sarjito, dan A.H.C. Haditomo. 2016. Keanekaragaman agensia penyebab vibriosis pada udang vaname (*Litopenaeus Vannamei*) dan sensitivitasnya terhadap antibiotik. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 5(1): 98-107.
- Arwiyanto, T., Y.M.S. Maryudani, dan A.E. Prasetyo. 2007. Karakterisasi dan uji aktivitas *Bacillus* spp. sebagai agensia pengendalian hayati penyakit lintat pada tembakau Temanggung. *Berk. Penel. Hayati* 12: 93-98.
- Awais, M., A. Pervez, A. Yaqub, and M.M. Shah. 2010. Production of antimicrobial metabolites by *Bacillus subtilis* immobilized in polyacrylamide gel. *Pakistan J. Zool.* 42(3): 267-275.
- Fajriani, B., A. Budiharjo, dan S. Pujiyanto. 2018. Isolasi dan identifikasi molekuler bakteri antagonis terhadap *Vibrio parahaemolyticus* patogen pada udang *Litopenaeus vannamei* dari produk probiotik dan sedimen mangrove di Rembang. *Jurnal Biologi*. 7(1): 52-63.
- Gao, X.Y., Y. Liu, L.L. Miao, E.W. Li, T.T. Hou, and Z.P. Liu. 2017. Mechanism of anti-*Vibrio* activity of marine probiotic strain *Bacillus pumilus* H2, and characterization of the active substance. *AMB Express*. 7: 23. doi: 10.1186/s13568-017-0323-3.
- Ghazali, G.A.F. 2014. Aplikasi probiotik, prebiotik dan sinbiotik melalui pakan pada udang vaname *litopenaeus vannamei* yang dipelihara pada jaring hapa. [Tesis] Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Gunarto, A. Mansyur, dan Muliani. 2009. Aplikasi dosis fermentasi probiotik berbeda pada budidaya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pola intensif. *Ris. Akuakultur*. 4(2): 241-255.
- Husaeni H. dan I.K.A. Sudarmayasa. 2018. Pemberian probiotik pada budidaya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) semi intensif di tambak. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*. 16(1): 57-60.
- Karunasagar, I. 1994. Mass mortality of *Peneaus monodon* larvae due to antibiotic-resistant *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture*. 128: 203-209.
- Kurniawan, L.A., M. Arief, A. Manan, dan D.D. Nindarwi. 2016. Pengaruh pemberian probiotik berbeda pada pakan terhadap retensi protein dan retensi lemak udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Aquaculture and Fish Health*. 6(1): 32-40.
- Muliani, Nurbaya, dan M.I. Madeali. 2011. Teknik aplikasi bakteri probiotik pada pemeliharaan udang windu (*Peneaus monodon*) di laboratorium. *J. Ris. Akuakultur*. 6(1): 81-92.
- Novitasari, A., R.N. Iskandar, H.A. Elvazia, E. Harpeni, Tarsim, dan Wardiyanto. 2017. Efektivitas pemberian *Bacillus* sp. D2.2 pada media teknis molase terhadap kualitas air dan performa pertumbuhan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Biospecies*. 10(2): 50-59.
- Purivirojkul W., N. Areechon, P. Srisapoome, dan M. Makeeton. 2006. Competition on using nutrient for growth between *Bacillus* spp. and *Vibrio harveyi*. *Journal of Department of Zoology, Faculty of Science, Kasetsart University, Thailand*.
- Sahlan, A.Q., E. Kusdiyantini, S. Pujiyanto, dan S. Antonius. 2014. Isolasi dan karakterisasi isolat konsorsium bakteri lahan pertanian sebagai potensi degradasi pestisida propropoxur. *Jurnal Biologi*. 3(3): 33-38.
- Sarjito, M. Apriliani, D. Afriani, dan A.H.C. Haditomo. 2015. Agensia penyebab vibriosis pada udang vaname (*Litopenaeus gariepinus*) yang dibudidayakan secara intensif di Kendal. *Jurnal Kelautan Tropis*. 18(3): 189-196.
- Saulnier, D., P. Haffner, C. Goarant, P. Levy, and D. Ansquer. 2000. Experimental infection models for shrimp vibriosis studies: a review. *Aquaculture*. 191: 133- 144.
- Sumardi. 2005. Isolasi, karakterisasi, dan produksi β -mananase ekstraseluler dari *Geobacillus stearothermophilus* L-07. [Disertasi] Sekolah Pascasarjana IPB. Bogor. https://repository.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/683/1/2005sum1_abstract.pdf.
- Sumardi, Sutyarso, G.N. Susanto, T. Kurtini, M. Hartono, dan R.E. Puspitaningsih. 2016. Pengaruh probiotik terhadap kolesterol darah pada ayam petelur (Layer). *Jurnal Kedokteran Hewan*. 10(2): 128-131.
- Susilowati, T., V.E. Herawati, F. Basuki, dan T. Yuniarti. 2017. Performa produksi udang vaname (*Litopenaeus vannamei*)

- yang dibudidayakan pada tambak sistem semi intensif dengan aplikasi probiotik. *PENA Akuatika*. 16(1): 22-37.
- Sya'bani, N., A. Yusiati, I. Rustikawati, dan A.M. Lusiastuti. 2015. Frekwensi penambahan probiotik *Bacillus* sp. dan *Staphylococcus* sp. pada media pemeliharaan benih ikan lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) untuk ketahanan terhadap *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal perikanan kelautan*. 4. 2(1): 130-140.
- Triandini, I.G.A.A.H dan B.F. Suryadi. 2018. Uji aktivitas dan produksi antibakteri *Bacillus lentus* yang diisolasi dari sistem pencernaan landak laut dalam menghambat bakteri penyebab infeksi pada kehamilan. *Jurnal Sangkareang Mataram*. 4(2): 34-40.
- Utami, U., Sarjito, dan Desrina. 2016. Pengaruh salinitas terhadap efek infeksi *Vibrio harveyi* pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 5(1): 82-90.
- Vaseeharan, B. and 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: 83-87.