



ISSN: 2339-0883

**SEMINAR NASIONAL TAHUNAN KE-IV
HASIL-HASIL PENELITIAN PERIKANAN DAN KELAUTAN
TAHUN 2014**

Tema:

**Memperkuat Peran Riset Perikanan dan Kelautan
Sebagai Upaya Meningkatkan Kompetensi Menyongsong
Asean Economic Community Tahun 2015**



PROSIDING

JILID 1

- Keanekaragaman Hayati Perairan dan Konservasi
- Oceanografi dan Mitigasi Bencana
- Teknologi Hasil Perikanan dan Bioteknologi Perikanan Kelautan

**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO**

Semarang, 1 November 2014

T3-12	Skrining dan Identifikasi Bakteri Penghasil Enzim Ekstraseluler Sebagai Bioremediasi dan Biokontrol Terhadap Bakteri Vibriosis yang Berasal dari Sedimen Mangrove Segara Anakan – Cilacap. <i>Wilis Ari Setyati, Erni Martani, Triyanto, Subagiyo, Muhammad Zainuddin.....</i>	305-314
T3-13	Skrining Kandidat Bakteri Probiotik dari Saluran Pencernaan Ikan Nila (<i>Tilapia nilotica</i>) Berdasarkan Aktifitas Produksi Enzim Proteolitik Ekstraseluler <i>Yempita Efendi, Yusra.....</i>	315-322
T3-14	Isolasi Dan Purifikasi Substansi Antibakteri MDR Dari Jamur Symbion Sponge Perairan Kupang, NTT <i>Khoeruddin Witriansyah, Agus Trianto, Ocky Karna Radjasa, Isai Yusidarta, Wiratno.....</i>	323-330
T3-15	Identifikasi Pigmen Pada Bakteri Symbion Lamun <i>Enhalusacoroides</i> dari Perairan Teluk Awur, Jepara <i>Handang Nuryadi, Budhi Prasetyo, Lia Kusmita, Ocky Karna Radjasa...</i>	331-338
T3-16	Kajian Keamanan Pangan Dan Karakter Fisik Produk Bakso Dan Kerupuk Udang (<i>Studi Kasus Di Kota Semarang</i>) <i>Putut Har Riyadi, Apri Dwi Anggo, Selamat Suharto.....</i>	339-350
T3-17	Kandungan Lemak Total Dan Profil Asam Lemak Pada Rumput Laut Genus <i>Caulerpa</i> <i>Eko Susanto, A. Suhaeli Fahmi, Masayuki Abe, Masashi Hosokawa, Kazuo Miyashita.....</i>	351-358
INDEKS PEMAHALAH.....		359

Probiotik tergolong dalam makanan fungsional, dimana bahan makanan ini mengandung komponen-komponen yang dapat meningkatkan kesehatan ternak dan mengefesienkan pakan dengan cara manipulasi komposisi bakteri yang ada dalam pakan udang. Namun tidak semua bakteri yang berpotensi sebagai probiotik. Perlu adanya identifikasi secara genetik yang menunjukkan hasil identifikasi secara spesifik. Untuk itu perlu diketahui karakteristik bakteri probiotik yang terdapat pada ikan Nila (*Tilapia nilotica*), terutama dalam penemuan spesies baru atau galur bakteri lokal sehingga dapat memperkaya isolat bakteri asli Indonesia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi, identifikasi dan karakterisasi bakteri yang berasal dari saluran pencernaan ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) sebagai kandidat probiotik yang diharapkan sebagai salah satu alternatif untuk mengantisipasi terjadinya kasus kematian masal ikan di KJA Danau Maninjau.

MATERI DAN METODE

Bahan Penelitian

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibeli dari petani ikan yang terletak di sekitar Danau Maninjau. Pengambilan sampel di KJA berdasarkan jenis pakan ditentukan secara *purposive sampling*.

Bahan-bahan kimia yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah: bacto agar (Oxoid), CaCO_3 , aquadest steril, alkohol, spiritus. Untuk pewarnaan Gram dibutuhkan zat warna crystal violet, lugol, alkohol 96%, 70%, safranin, H_2O_2 3%, pewarna malacyt green. Uji uji biokimia digunakan KOH 1%, NaCl, potasium kromat, perak nitrat, fenofalein, p-aminodimetilanilin oksalat 1%, NaOH 0,1N, minyak immersi, bromthymol blue, pereaksi kovacs dan asam sulfanilat.

Media yang digunakan adalah *Glukosa Trypton Agar* (GTA) + CaCO_3 , TSA (*trypticase soy agar*), trypton broth, sulfit agar, nitrat broth, TSIA (*triple sugar iron agar*), *Baird Parker Agar* (BPA), *brain heart infusion* (BHI) dan *Simmons citrate*.

Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri saluran pencernaan dilakukan dengan teknik *pourplate* pada media glukose tripton agar + CaCO_3 . Satu gram homogenat saluran pencernaan disuspensikan ke dalam 9 mL air laut steril kemudian dibuat seri pengenceran hingga 10^{-8} . Masing masing seri pengenceran ditanam pada media nutrient agar kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C .

Identifikasi Bakteri

Identifikasi isolat bakteri meliputi karakteristik morfologi dan biokimia bakteri yakni: pewarnaan Gram, pewarnaan spora, motilitas, uji TSIA, pembentukan gas, katalase, oksidase, motilitas, indol, urea, sitrat, laktosa, glukosa, sukrosa, MR dan VP, OF test, reduksi nitrat dan gelatin (Fardiaz, 1989; Hadioetomo, 1985 dan Lay, 1994).

Uji Aktivitas Produksi Enzim Pro-teolitik

Uji ini dilakukan dengan prosedur (Jacob dan Gerstein, 1960) dalam Bairagi, *et al.*, (2002). Isolat-isolat yang diperoleh dari hasil isolasi di inokulasikan dengan cara streak pada media agar yang diperkaya dengan skim milk (4%).

Inkubasi pada 37°C selama 24 jam. Adanya aktivitas produksi enzim proteolitik ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening.

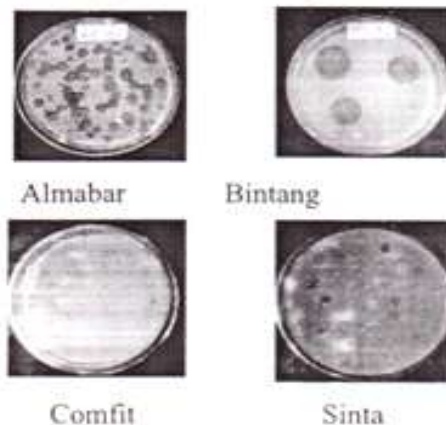
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian diketahui lima jenis pakan yang biasa digunakan oleh petani pembudidaya ikan Nila (*Tilapia nilotica*) yang berada di sekitar Danau Maninjau. Sebaran jenis pakan yang biasa digunakan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Sebaran jenis pakan yang digunakan petani ikan.

Jenis Pakan	
1	Almabar
2	Bintang
3	Cargil
4	Comfeed
5	Sinta

Berdasarkan tabel 1, terlihat bahwa jenis pakan yang biasa digunakan oleh petani pembudidaya ikan di KJA yang terdapat di sekitar Danau Maninjau adalah lima jenis yakni almabar, bintang, cargil, comfeed dan sinta, namun pada waktu penelitian dilakukan ikan yang diambil sebagai sampel hanya berasal dari 4 pakan yakni Almabar, Bintang, Comfeed dan Sinta. Hal ini karena petani yang menggunakan pakan Cargil baru melakukan pemanenan terhadap ikan yang mereka budidayakan. Untuk mengetahui jenis bakteri dari saluran pencernaan ikan Nila (*Tilapia nilotica*) yang akan dijadikan kandidat probiotik dilakukan isolasi bakteri. Sebelum dilakukan identifikasi, terlebih dahulu koloni yang terdiri dari campuran beberapa jenis mikroba dipisahkan satu dengan yang lainnya, sehingga diperoleh isolat bakteri. Bakteri yang telah murni ini selanjutnya dikarakterisasi berdasarkan sifat morfologi dan biokimianya.



Gambar 1. Bentuk morfologi koloni bakteri dari usus ikan nila (*Tilapia niloticus*) berdasarkan jenis pakan.

Tabel 2. Karakteristik koloni bakteri hasil isolasi dari usus ikan nila berdasarkan uji biokimia

Karakteristik	Kelompok isolat bakteri			
	A	B	C	D
Gram	+	+	-	-
Bentuk	bacil	bacil	bacil	bacil
endospora	+	+	-	-
Motilitas	+	+	+	-
Oksidase	-	-	-	-
Aerob/anaerob	A	A	A	A
Indol	-	-	-	-
Reduksi nitrat	+	+	-	-
TSIA	M/K	K/K	K/K	M/M
Glukosa	-	-	+	+
Laktosa	-	-	+	-
Sukrosa	+	-	+	-
Gas	-	-	+	-
Sitrat	-	-	+	-
Agar darah	+	+	-	-
Pigmentasi	Abu-abu	Abu-abu	Abu-abu	Abu-abu
Hemolysis	-	-	-	-
Urea	-	-	+	-
Mannitol	-	-	+	-
MR	+	+	+	-
VP	+	-	-	+
OF	-	-	+	-
Gelatin	+	+	-	-
KCN			+	-
Arginin			+	-
Lisin			+	-
Malonat broth			-	-

Pada tahap awal isolasi, bakteri yang berasal dari sampel ikan Nila (*Tilapia nilotica*) ditumbuhkan ke dalam media GTA + CaCO₃ melalui metode pengenceran bertingkat dari 10⁻¹ sampai 10⁻⁸ untuk mengurangi jumlah populasi mikroba yang terdapat dalam media. Larutan pengencer yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquadest steril. Isolat yang memiliki zona bening diduga merupakan bakteri asam. Sebanyak 55 isolat bakteri yang diduga penghasil asam berdasarkan zona bening di sekeliling koloni bakteri yang ditumbuhkan pada medium GTA + CaCO₃. Selanjutnya isolat ditumbuhkan ke medium *Glukosa Trypton Agar* (GTA) berulang-ulang sampai 3 kali guna memperoleh sel tunggal. Penampakan koloni isolat bakteri hasil isolasi dari usus ikan Nila (*Tilapia nilotica*) dapat dilihat pada gambar 1.

Penelitian tentang isolasi bakteri dari saluran pencernaan ikan nila juga dilakukan oleh Gangasuresh, *et al.*, (2014) pada ikan Nila yang sehat dan yang sakit, Flores, *et al.*, (2013); Zapatha (2013), Thillaimaharani, *et al.*, (2012) dan Perdana (2011). Setelah purnian isolat bakteri dan dilanjutkan dengan pengamatan morfologi dan biokimia, maka diperoleh beberapa isolat bakteri probiotik yang terdapat di dalam usus dan lambung ikan Nila. Identifikasi dari isolat merujuk pada Holt, *et al.*, (1994) seperti terlihat pada tabel 2.

Isolat Bakteri Kelompok A dan B (genus *Bacillus*).

Bakteri yang mendekati genus ini mempunyai ciri-ciri morfologi sebagai berikut: warna koloni putih susu atau agak krem, bentuk koloni bulat dengan tepian keriput. Sel berbentuk batang dan lurus, berukuran 0,5-2,5 x 1,2-10 μm , dan sering tersusun dalam bentuk sepasang atau rantai, dengan ujung bundar atau empat persegi. Pewarnaan sel Gram +, motil, katalase dan oksidase positif, metil red negatif, optimum pada suhu 30-37°C dan tumbuh baik pada NaCl 1-3%. Menurut Holt, *et al.*, (1994), *Bacillus* sp. Gram + dan biasanya motil oleh flagel peritrichous. Endospora oval, kadang-kadang bundar atau silinder dan sangat resisten pada kondisi yang tidak menguntungkan. Mereka tidak lebih dari satu spora per sel dan sporulasi tidak tahan pada udara terbuka. Bakteri ini bersifat aerobik atau fakultatif anaerobik. Kemampuan fisiologi beragam, sangat peka terhadap panas, pH dan salinitas; kemoorganotrof dengan metabolisme fermentasi atau pernapasan. Biasanya katalase dan oksidase positif. Tersebar luas pada bermacam-macam habitat; sedikit spesies adalah patogen terhadap vertebrata atau invertebrata. Jenis bakteri yang sama juga ditemukan oleh Musefiu, *et al.*, (2011) pada penelitian isolasi dan identifikasi flora bakteri aerob yang terdapat pada permukaan dan saluran pencernaan ikan lele dan ikan Nila di Ibadan, Nigeria utara. Penelitian yang sama juga dilakukan oleh Thillaimaharani *et al.*, (2012) yang meneliti tentang flora bakteri intestinal ikan Nila (*Oreochromis mosambicus*, Peter, 1852) dan menemukan bakteri *Virgibacillus pantothenicus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Enterococcus faecalis* dan *Virgibacillus alginolyticus*.

Isolat Bakteri Kelompok C (Genus *Achromobacter*)

Bakteri yang mendekati genus ini mempunyai ciri-ciri morfologi sebagai berikut: Anggota Enterobacteriaceae berbentuk batang, dan biasanya 1-5 μm panjang. Seperti lainnya Bakteri, enterobacteria memiliki Gram-negatif dan mereka anaerob fakultatif, fermentasi gula untuk menghasilkan asam laktat dan berbagai produk akhir lainnya. Sebagian besar juga mengurangi nitrat menjadi nitrit, meskipun ada beberapa yang tidak. Tidak seperti kebanyakan bakteri, *Achromobacter* umumnya kurang sitokrom oksidase C, meskipun ada pengecualian (misalnya *Plesiomonas shigelloides*). Kebanyakan flagela yang digunakan untuk bergerak, tetapi genera sedikit yang nonmotile. Mereka tidak membentuk spora. Reaksi katalase bervariasi ada positif namun kadang ada juga yang negatif, tidak menghasilkan gas, reaksi H₂S negatif, uji oksidase negatif, uji indol negatif, uji urea negatif, uji sitrat juga negatif, uji terhadap medium KCN negatif, uji arginin kadang ada yang positif dan uji lisin negatif. Banyak anggota keluarga ini terdapat pada bagian normal dari flora usus ditemukan dalam usus manusia dan hewan lainnya, sementara yang lain ditemukan dalam air atau tanah, atau parasit pada berbagai hewan yang berbeda dan tanaman. Menurut Moeljanto (1992) jenis-jenis bakteri yang biasanya terdapat dalam ikan segar biasanya termasuk dalam golongan *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, dan *Clostridium*. Lewis (1973) dan Austin (2002) menyatakan bahwa bakteri *Achromobacter* dan *Enterobacter* merupakan bakteri yang biasa ditemukan dalam tubuh ikan dan udang selain *Acinetobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Eikenella*, *Bacteroides*, *Citrobacter freundii*, *Hafnia alvei*, *Cyt-phaga/Flexibacter*, *Bacillus*, *Listeria*, *Propionibacterium*, *Staphylococcus*, *Moraxella*, dan *Pseudomonas*.

Isolat Bakteri Kelompok D (Genus *Enterobacter*)

Enterobacter merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk basil, dengan ukuran $0,6 - 1,0 \mu\text{m} \times 1,2 - 3,0 \mu\text{m}$, motil, tidak membentuk spora, berkapsul, bersifat aerob, menghasilkan gas dan memiliki flagel. Bakteri ini sering ditemukan bersama *Escherichia coli* hidup bebas di alam seperti di air, tanah dan juga di saluran pencernaan manusia dan hewan. Oksidase negatif, katalase ada yang positif dan kadang negatif, motil, uji sitrat positif, indol negatif, uji urease positif, sitrat positif, uji gula (laktosa, glukosa dan sukrosa) positif, uji terhadap manitol positif, uji VP negatif dan uji OF positif.

Sifat pertumbuhan dari *Enterobacter* yaitu dapat tumbuh baik hampir di semua media buatan pada laboratorium mikrobiologi. Bentuk koloni *Enterobacter* (*Aerobacter aerogenes*) besar, berwarna putih-merah, keruh, cembung, bulat dan halus. Selain itu *A. aerogenes* juga mengurai karbohidrat seperti glukosa dan laktosa menjadi asam dan gas seperti halnya *Escherichia coli*. *Enterobacter aerogenes* dapat hidup sebagai saproba di saluran pencernaan hewan dan manusia. *Enterobacter aerogenes* adalah salah satu jenis bakteri coliform, yang merupakan kelompok bakteri yang digunakan sebagai indikator kondisi sanitasi yang tidak baik terhadap makanan dan minuman.

Bakteri ini juga ditemukan pada penelitian Harbi, *et al.*, (2012) yang meneliti bakteri yang terdapat di dalam saluran pencernaan ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang di bekukan, Takroo dan Ritu (2011) yang melakukan isolasi bakteri dari ikan Rohu (*Labeo rohita*) di India.

Deteksi Produksi Enzim Proteolitik Ekstraseluler

Kemampuan memproduksi enzim proteolitik ekstraseluler dideteksi menggunakan medium pengujian yaitu medium yang diperkaya dengan substrat enzimnya (*skim milk*). Pendeteksian didasarkan pada terbentuknya zona hidrolisis disekitar koloni bakteri yang diuji. Hasil uji produksi enzim proteolitik ekstraseluler menunjukkan bahwa semua isolat uji memproduksi enzim proteolitik ekstraseluler.

Pada penelitian ini difokuskan salah satunya pada jenis enzim proteolitik karena komponen utama pakan ikan adalah protein. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh seluruh isolat mempunyai kemampuan menghasilkan enzim proteolitik ekstraseluler.

Kemampuan bakteri probiotik untuk memproduksi enzim proteolitik ekstraseluler mempunyai peranan penting dalam ikut serta mencerna senyawa-senyawa yang bersifat protein. Hasil penelitian Geovanny dan Shen (2008) menunjukkan adanya peningkatan yang nyata pada aktivitas enzim proteolitik pada udang yang diberi perlakuan probiotik dibandingkan kontrol. Penelitian yang sama mengenai pengaruh pemberian probiotik terhadap aktivitas enzim pencernaan juga dilakukan oleh Ziaei-Nejad, *et al.*, (2006). Zhou, *et al.*, (2009). Musikasang, *et al.*, (2009) menetapkan kemampuan untuk mencerna protein sebagai salah satu kriteria seleksi probiotik. Adanya enzim proteolitik ini selanjutnya akan meningkatkan jumlah senyawa yang bersifat protein yang dicerna sehingga menurunkan jumlah limbah yang mengandung Nitrogen yang berasal dari proses pencernaan. Hal ini menguntungkan karena akan menekan jumlah amonia yang berasal dari proses mineralisasi N-organik yang diharapkan dapat memecahkan masalah kematian masal ikan yang sering terjadi di Danau Maninjau. Penelitian tentang uji aktivitas enzim proteolitik yang terdapat pada saluran pencernaan ikan sebagai kandidat probiotik juga dilakukan oleh Subagyo dan Djunaedi (2011) menemukan seluruh

isolat mempunyai kemampuan menghasilkan enzim proteolitik protease. Hasil penelitian Mubarik, *et al.*, (2006) menunjukkan bahwa isolat NU-2 merupakan bakteri proteolitik dengan nilai Indeks Proteolitik (IP) sebesar 1.89 dan berpotensi untuk dijadikan probiotik karena mampu menghasilkan baik protease, α -amilase, dan glukamilase ekstraseluler.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil seleksi diperoleh 55 isolat bakteri dari saluran pencernaan ikan Nila (*Tilapia nilotica*) yang secara morfologi dan biokimia dikelompokkan ke dalam tiga genus yakni *Bacillus*, *Achromobacter* dan *Enterobacter*. Berdasarkan produksi enzim proteolitik ekstra-seluler diketahui bahwa bakteri dari genus *Bacillus* dapat dijadikan sebagai kandidat probiotik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional, melalui DIPA Kopertis Wilayah X Tahun 2014 Nomor SP DIPA-023.04.2.532476/2014 tanggal 5 Desember 2013, sesuai dengan Surat Perjanjian Hibah Penelitian Nomor: 01/ Kontrak /010/KM/2014.

DAFTAR PUSTAKA

- Austin, B. 2002. The bacterial microflora of fish. Mini-Review. The Scientific World Journal. 2: 558-572
- Bairagi, A., K. Ghosh, S. Kumarsen dan A. K. Ray, 2002. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. Aquaculture International, 10: 109-121.
- Beveridge M.C.M., 1996. Cage aquaculture, fishing news books, Oxford, 346p.
- Fardiaz, S., 1989. Mikrobiologi pangan penuntun praktek laboratorium. Bogor: Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Feliatra., I. Efendi dan E. Suryadi. 2004. Isolasi dan identifikasi bakteri probiotik dari ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam upaya efisiensi pakan ikan. Jurnal Natur Indonesia, 6(2): 75-80.
- Flores. M. L dan M. A.O. Novoa, 2013. The use of lactic acid bacteria isolated from intestinal tract of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), as growth promoters in fish fed low protein diets. Latin America Journal Aquatic Resources. 41(3): 490-497
- Gangasuresh, P dan M. R. Bharathi, 2014. Comparative diversity profiles of gastrointestinal micro flora or normal and sick *Oreochromis mossambicus* (Peters). Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology, 4(2): 91-96
- Geovanny , D. G. R dan M. A. Shen, 2008. Influence of probiotics on the growth and digestive enzyme activity of White Pacific Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Journal Ocean Univ. Chin. 7: 215-218.
- Hadioetomo, R. 1985. Mikrobiologi dasar dalam praktek teknik dan prosedur dasar laboratorium. Gramedia. Jakarta.

- Holt, J. G; N. R. Krieg; P. H. A. Sneath; , J. T. Staley dan S. T. Williams, 1994. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Ninth Edition. Williams and Wilkins. United States of America.
- Lay B. W., 1994. Analisis mikroba di laboratorium. Jakarta: PT. Raja Persada.
- Lewis, H. D, 1973. Predominant aerobic bacteria of fish and shellfish. Department of Veterinary Microbiology. Texas A & M University. College Station. Texas.
- Moeljanto, 1992. Pengawetan dan pengolahan hasil perikanan, Jakarta, Penebar Swadaya
- Musikasang, H., A. Tani, A. H. Kittikun dan S. Mancerat, 2009. Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from chicken gastrointestinal digestive tract. *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 25: 1337-1345.
- Subagiyo dan A. Djunaedi. 2011. Skrining kandidat bakteri probiotik dari saluran pencernaan ikan Kerapu berdasarkan aktivitas anti bakteri dan produksi enzim proteolitik ekstraseluler. *Jurnal Ilmu Kelautan*, 16(1): 41-48
- Syandri, H. 2013. Penggunaan ikan Nilem (*Osteochilus haselti* CV) dan ikan Tawes (*Puntius javanicus* CV) sebagai agen hayati pembersih perairan Danau Maninjau, Sumatera Barat. *Jurnal Natur Indonesia*, 6(2): 87-90.
- Tangko A. M., A. Mansyur dan Reski, 2007. Penggunaan probiotik pada pakan pembesaran ikan Bandeng dalam keramba jaring apung di laut, *Jurnal Riset Akuakultur II* (1): 33-40.
- Thillaimaharani, K. A., A. R. Logesh, K. Sharmila, B. Kaja Magdoom dan M. Kalaiselvam, 2012. Studies on the intestinal bacterial flora of tilapia *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) and optimization of alkaline protease by *Virgibacillus pantothenicus*. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 4(5): 79-87.
- Trakroo, M. D dan R. Agarwal, 2011. Qualitative and quantitative study on bacterial flora of farm raised Rohu, *Labeo rohita* (Ham.) in India. *J.Recent Trends in Biosci.*,1(2): 66-71.
- Zapata, A. A. 2013. Antimicrobial activities of lactic acid bacteria strains isolated from Nile Tilapia intestine (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Biology and Life Science* 4 (1). 164-171.
- Ziaei-Nejad S., M. H. Rezaei, G. A. Takami, D. L. Lovett, A.R. Mirvaghefi dan M. Shakouri, 2006. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture*, 252: 516-524.
- Zhou, X., Y. Wang dan W. Li, 2009. Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. *Aquaculture*, 287: 349-353.