

**KINERJA PROBIOTIK *Lactococcus lactis* DALAM SALURAN PENCERNAAN
UDANG VANAMEI (*Litopenaeus vannamei*) DENGAN PEMBERIAN PAKAN
YANG DISUPLEMEN PREBIOTIK KACANG HIJAU**

Buana Basir

Sekolah Tinggi Teknologi Kelautan (STITEK) Balik Diwa Makassar

Email: fatih.elfikri@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis perkembangan populasi probiotik, aktivitas enzim protease, dan tingkat kecernaan protein udang vanamei yang diberi prebiotik kacang hijau dengan konsentrasi berbeda di dalam pakan. Wadah yang digunakan adalah bak fiber kerucut volume 150 L sebanyak 12 buah. Hewan uji adalah juvenil udang vanamei (*Litopenaeus vannamei*) berumur 27 hari dengan bobot $1,4 \pm 0,424$ g/ekor, yang dipelihara selama 30 hari dengan padat tebar 150 ekor/m³. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan konsentrasi prebiotik kacang hijau (A=0, B=5, C=10, dan D=15%) dan 3 ulangan. Data dianalisis dengan ANOVA menggunakan program SPSS versi 16 yang dilanjutkan dengan uji W-Tukey. Hasil penelitian menunjukkan penambahan prebiotik kacang hijau dengan berbagai konsentrasi ke dalam pakan berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap populasi probiotik, $2,9 \times 10^5 \pm 175,58$ (A), $7,4 \times 10^5 \pm 231,805$ (B), $19,0 \times 10^5 \pm 468,501$ (C), $18,0 \times 10^5 \pm 28,868$ (D) koloni/mL, aktivitas enzim protease 0,0029 (A), 0,00482 (B), 0,0068 (C), 0,005 (D) UA/mL, dan kecernaan protein $46,112 \pm 2,826$ (A), $51,440 \pm 3,812$ (B), $51,731 \pm 3,914$ (C), $34,052 \pm 10,537$ % (D).

Kata kunci: Probiotik, prebiotik, aktivitas enzim, kecernaan, udang vanamei.

PENDAHULUAN

Udang vanamei adalah salah satu alternatif udang introduksi yang mulai dibudidayakan sejak beberapa tahun lalu setelah udang windu mengalami berbagai masalah, seperti serangan penyakit dan penurunan kualitas lingkungan budidaya (Widanarni *dkk.*, 2004). Udang vanamei banyak diminati karena memiliki keunggulan, seperti tahan penyakit, pertumbuhannya cepat (masa pemeliharaan 100-110 hari), sintasan tinggi dan nilai konversi pakan (FCR) rendah berkisar 1:1,3 (KKP, 2012). Harga di pasaran juga cukup baik, yaitu mencapai Rp 100.000 per kilogramnya untuk pasar lokal. Pemasaran yang baik pula pada tingkat internasional (Ariawan, *dkk.* 2005).

Biaya pakan yang cukup tinggi merupakan salah satu kendala yang cukup besar bagi petani tambak dalam mengelola usaha budidaya udang,

terutama dalam skala semi dan intensif. Oleh karena itu dilakukan alternatif penggunaan probiotik yang diharapkan dapat meningkatkan efisiensi penggunaan pakan (Murni, 2004), sehingga dapat menekan biaya penyediaan pakan.

Penggunaan probiotik dalam budidaya sudah banyak dilakukan beberapa tahun terakhir. Probiotik memiliki enzim-enzim khusus yang membantu dalam pemecahan molekul kompleks menjadi molekul sederhana yang mempermudah pencernaan dan penyerapan nutrisi pada saluran pencernaan udang (Nopitawati, 2010). Penyerapan nutrisi yang tinggi diharapkan dapat meningkatkan pertumbuhan dan produksi, sehingga sangat mendukung optimalnya usaha budidaya.

Salah satu jenis probiotik yang sudah dikenal dan sudah sering digunakan adalah *Lactococcus* spp. yang berfungsi untuk membantu

kecernaan nutrisi, namun dalam kegiatan budidaya ikan penggunaannya belum banyak dilaporkan. *Lactococcus lactis* dapat menghasilkan enzim α -galaktosidase yang mampu menghidrolisis rafinosa dan stakiosa (Yusmarini, 2009). Selain itu *L. lactis* adalah salah satu jenis bakteri asam laktat yang mampu dengan cepat memproduksi asam laktat (Piraino dkk., 2008), dan mempunyai aktivitas proteolitik lebih besar dari jenis bakteri asam laktat lainnya (Garabal dkk., 2007).

Salah satu upaya meningkatkan populasi bakteri *L. lactis* dalam saluran pencernaan adalah penambahan prebiotik dalam pakan. Prebiotik adalah bahan makanan yang berupa serat yang tidak dapat dicerna oleh tubuh sehingga menjadi bahan makanan bagi bakteri probiotik. Kacang-kacangan dapat digunakan sebagai prebiotik karena mengandung oligosakarida tidak tercerna (Widowati dan Misgiyarta, 2003), tetapi menguntungkan bagi bakteri probiotik. Kacang hijau memiliki kandungan karbohidrat tertinggi dari kacang-kacangan pada umumnya, yaitu sebesar 56,8%/100 g kacang (Fratwi dkk., 2008). Dalam 100 gram kacang hijau mengandung sukrosa 1,06-2,19%, rafinosa 0,38-0,69%, stakiosa 0,50-1,50 % dan pati yang terdiri dari amilosa 28,8% dan amilopektin 71,2%. Selain itu pada biji-bijian seperti kacang hijau dan sereal lainnya mengandung pula polisakarida non pati/non starch polisaccharides (NSP) yang terkandung sebesar 10-30 % (Haryati, 2011).

MATERI DAN METODE

A. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 30 hari di Politeknik Pertanian Negeri Pangkep.

Analisis proksimat, analisis aktivitas enzim, analisis tingkat kecernaan dilakukan di Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau (BPPBAP) Maros, dan analisis probiotik di Balai Pengujian dan Pengembangan Mutu Hasil Perikanan (BPPMHP) Makassar.

B. Wadah dan Hewan Uji

Wadah yang digunakan adalah bak fiber kerucut dengan volume 150 L sebanyak 12 buah, yang ditempatkan di dalam ruangan (*indoor*). Hewan uji yang digunakan adalah juvenil udang vanamei (*Litopenaeus vannamei*) yang berukuran bobot $1,4 \pm 0,424$ g/ekor, dipelihara dari umur 27-57 hari dengan padat tebar 150 ekor/m³.

C. Pakan Buatan dan Probiotik

Komposisi bahan baku pakan disajikan pada Tabel 1.

Bakteri yang digunakan sebagai probiotik adalah bakteri asam laktat jenis *Lactococcus lactis* dengan konsentrasi $2,1 \times 10^9$ CFU/mL.

D. Prosedur Penelitian

1. Persiapan pakan dan probiotik

Persiapan pembuatan pakan uji diawali dengan menyiapkan bahan baku pakan meliputi pengeringan dan penghalusan bahan menjadi bentuk tepung. Masing-masing bahan baku ditimbang sesuai dengan komposisi bahan baku penyusun pakan (Tabel 1). Bahan-bahan tersebut kemudian dicampur hingga homogen, dan ditambah air sebanyak 6% dari berat pakan.

Tabel 1. Komposisi bahan baku penyusun pakan pada setiap perlakuan

Bahan Baku	Komposisi (%)			
	A	B	C	D
Tepung ikan	41	41	41	41
Tepung kedelai	22	22	22	22
Tepung kacang hijau	0	5	10	15
Tepung terigu	10	10	10	10
Casein	4,01	3,82	1,62	0
Pati	10,41	6,28	3,15	0
selulosa	4,62	4	4,38	4,2
Lemak	1,96	1,9	1,85	1,8
Vitamin dan mineral	6	6	6	6
Total	100	100	100	100
Protein (%)	37,30	44,10	44,22	42,18
Karbohidrat (%)	40,73	33,66	34,56	38,23
Lemak (%)	8,45	8,68	7,38	6,13

Ket. : *) Minyak ikan dan minyak jagung = 2:1

**) Komposisi vitamin & mineral mix.

Setiap 10 kg mengandung Vitamin A 12.000.000 IU; Vitamin D 2.000.000 IU; Vitamin E 8.000 IU; Vitamin K 2.000 mg; Vitamin B₁ 2.000 mg; Vitamin B₂ 5.000; Vitamin B₆ 500 mg; Vitamin B₁₂ 12.000 µg; Asam askorbat 25.000 mg; Calcium-D-Phanthothenate 6.000 mg; Niacin 40.000 mg; Cholin Chloride 10.000 mg; Methionine 30.000 mg; Lisin 30.000 mg; Manganese 120.000 mg; Iron 20.000 mg; Iodine 200 mg; Zinc 100.000 mg; Cobalt 200.000 mg; Copper 4.000 mg; Santoquin (antioksidan) 10.000 mg; Zinc bacitracin 21.000 mg.

Adonan dicetak dengan mesin pencetak pellet, kemudian pakan dikeringkan dengan oven pada suhu dibawah 70°C selama 2-3 hari. Didinginkan pada suhu kamar atau diangin-anginkan, lalu dimasukkan ke dalam kantong plastik dan disimpan di tempat yang kering. Pakan selanjutnya dianalisis proksimat sebelum digunakan.

Metode pencampuran probiotik *L. lactis* dalam pakan mengacu pada metode Aslamyeh (2006), yaitu probiotik *L. lactis* terlebih dahulu diencerkan dengan *Buffer Peptone Water* dan minyak ikan (dengan perbandingan 1 mL probiotik : 3 mL *Buffer Peptone Water* : 1 mL minyak ikan. Campuran ini kemudian disemprot-

kan pada pakan secara merata dengan menggunakan sprayer.

2. Persiapan hewan uji

Hewan uji diaklimatisasi selama 24 jam di bak penampungan sebelum ditebar ke bak uji. Selama aklimatisasi, hewan uji diberi pakan komersil sebanyak 10% dari bobot tubuh. Pemberian pakan dilakukan pada pukul 07.00, 12.00, 16.00, dan pukul 20.00 WITA. Setelah masa aklimatisasi selesai, hewan uji dipuaskan selama 24 jam dengan tujuan menghilangkan sisa pakan dalam tubuh.

3. Pemeliharaan

Hewan uji dipelihara selama sebulan dan diberi pakan sesuai dengan perlakuan.

Frekuensi dan persentase pemberian pakan yang diberikan sama dengan masa aklimatisasi.

Selama percobaan, kualitas media budidaya dijaga dengan cara melakukan penyiponan serta pergantian air sebanyak 10-20% setiap hari. Pengukuran kualitas air media dilakukan 2 kali sehari, yaitu pada pagi dan sore hari, meliputi pengukuran suhu, salinitas, pH, oksigen terlarut secara *in situ* dan amoniak diukur di laboratorium menggunakan spektrofotometer.

E. Rancangan Percobaan dan Perlakuan

Penelitian didesain dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan masing-masing 3 ulangan. Perlakuan yang diuji adalah konsentrasi kacang hijau sebagai prebiotik dalam pakan udang vaname, yaitu : (A) pakan tanpa penambahan kacang hijau (kontrol), (B) pakan dengan konsentrasi kacang hijau 5 %, (C) pakan dengan konsentrasi kacang hijau 10 %, dan (D) pakan dengan konsentrasi kacang hijau 15 %.

F. Parameter Pengamatan

1. Populasi bakteri

Populasi bakteri yang terdapat di saluran pencernaan udang vaname dihitung di akhir percobaan dengan metode hitungan cawan. Sampel saluran pencernaan udang digerus dan setiap 1 g saluran pencernaan yang sudah digerus diencerkan dengan 9 mL larutan fisiologis steril. Kemudian hasil pengenceran tersebut yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri asam laktat pada medium MRS agar padat.

2. Aktivitas enzim protease

Sampel yang digunakan untuk analisis aktivitas enzim protease adalah usus dari udang vaname dengan membedah bagian punggung dari kepala sampai bagian ekor. Pengambilan sampel

usus dilakukan pada suhu 4⁰C. Usus udang vaname dikeluarkan menggunakan pinset lalu ditempatkan di *efendorf* dan dimasukkan ke dalam *freezer*.

Untuk keperluan analisis, sampel diambil sebanyak 1 g. Sampel dihancurkan dengan mortal sampai halus dan ditambahkan 10 mL akuades dingin untuk menghomogenkan. Selanjutnya disentrifuge dengan kecepatan 15.000 rpm selama 20 menit pada suhu 4⁰ C. Supernatan diambil sebagai ekstrak enzim kasar yang digunakan untuk pengujian aktivitas enzim protease.

Analisis aktivitas enzim protease mengikuti metode Bergmeyer dan Grassi (1983). Pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 550 nm. Aktivitas protease dihitung sesuai persamaan:

$$U = \left\{ \frac{\text{Act} - \text{Abl}}{\text{Ast} - \text{Abl}} \right\} \times \frac{P}{T}$$

Keterangan:

U = Unit aktivitas enzim protease

Act = Nilai absorban contoh

Abl = Nilai absorban blanko

Ast = Nilai absorban standar

P = Faktor pengenceran

T = Waktu inkubasi dalam menit.

3. Kecernaan Protein

Analisis kecernaan protein pakan dilakukan dengan metode tidak langsung, menggunakan indikator kromium oksida (Cr₂O₃) sebanyak 1% yang dicampur merata dalam pakan. Pengumpulan feses krom dilakukan setiap hari sampai 1 g kering feses. Analisis kromium menggunakan spektrofotometer shimadzu UV-VIS 2401PC.

Konsentrasi kromium dalam feses dapat dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{Cr}_2\text{O}_3 = (\text{Abs} - 0,0032 / \text{mg sampel} \times 0,2087) \times 100$$

Kecernaan dihitung berdasarkan rumus Takeuchi (1988), yaitu:

$$\text{Kecernaan nutrisi (\%)} = 100 \times \left\{ 1 - \frac{cp \times Nf}{cf \times Np} \right\}$$

Keterangan :

Cp = % Cr₂O₃ dalam pakan

Cf = % Cr₂O₃ dalam feses

Nf = % nutrisi dalam feses

Np = % nutrisi dalam pakan

4. Kualitas Air

Pengukuran parameter kualitas air; suhu, salinitas, pH, dan oksigen terlarut dilakukan secara *in situ* setiap pagi dan sore hari. Pengukuran amonia (NH₃) dengan metode spektrofotometer dilakukan pada awal, pertengahan dan akhir penelitian.

G. Analisis Data

Data populasi bakteri dan tingkat kecernaan protein diolah menggunakan analisis ragam (ANOVA) menggunakan program spss versi 16 dan dilanjutkan dengan uji W-Tukey. Data aktivitas enzim dan parameter kualitas air dianalisis secara deskriptif berdasarkan kelayakan hidup udang vanamei.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Populasi Bakteri

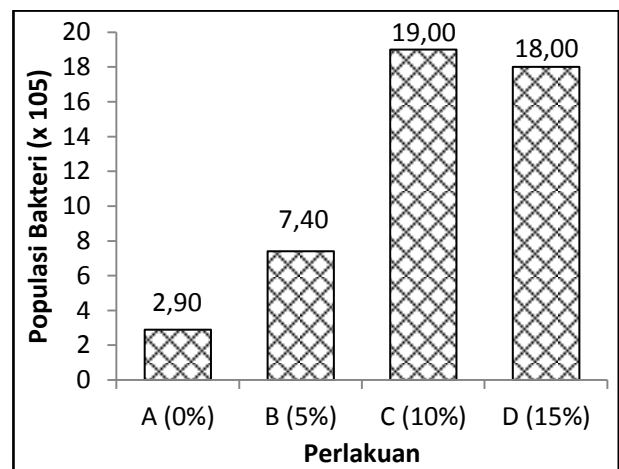
Rata-rata populasi bakteri dalam saluran pencernaan udang uji pada akhir pengamatan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai rata-rata populasi bakteri setelah percobaan (koloni/mL)

Perlakuan	Rata-rata Populasi ± SD
A	2,9x10 ⁵ ± 175,586 ^a
B	7,4x10 ⁵ ± 231,805 ^a
C	19,0x10 ⁵ ± 468,501 ^b
D	18,0x10 ⁵ ± 28,868 ^b

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan antar perlakuan (p<0,01).

Hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa perlakuan berbagai konsentrasi kacang hijau sebagai prebiotik berpengaruh sangat nyata (p<0,01) terhadap populasi bakteri dalam saluran pencernaan udang vanamei. Hasil uji lanjut W-Tukey menunjukkan bahwa populasi bakteri pada perlakuan tanpa konsentrasi prebiotik (kontrol=A) tidak berbeda dengan pemberian prebiotik 5% (B). Demikian pula dengan pemberian prebiotik 10% (C) tidak berbeda dengan pemberian prebiotik 15% (D). Sebaliknya terdapat perbedaan yang nyata (p<0,05) antara perlakuan kontrol (A) dengan perlakuan konsentrasi prebiotik 10% (C) dan 15% (D). Demikian pula terdapat perbedaan yang nyata (p<0,05) antara perlakuan pemberian prebiotik 5% (B) dengan pemberian prebiotik 10% (C) dan 15% (D).



Gambar 1. Histogram Populasi Bakteri pada Akhir Penelitian

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa dengan semakin meningkatnya konsentrasi prebiotik kacang hijau sampai pada batas 10%, akan meningkatkan juga pertumbuhan koloni bakteri di usus. Hal ini merupakan respon positif *L. lactis* terhadap prebiotik kacang hijau di dalam pakan.

Hal ini disebabkan probiotik mempunyai kemampuan merombak nutrisi yang tidak tercerna oleh tubuh, sehingga prebiotik yang tidak dapat dicerna dalam saluran pencernaan dimanfaatkan untuk menstimulasi pertumbuhan probiotik. Menurut Schrezenmeier dan Vrese (2001), prebiotik adalah komponen yang tidak dapat dipisahkan dari probiotik karena target dari prebiotik adalah memacu pertumbuhan probiotik. Penelitian sebelumnya juga melaporkan bahwa dari beberapa jenis oligosakarida yang berpotensi sebagai prebiotik dalam pakan ikan dapat meningkatkan pertumbuhan dan komposisi probiotik dalam usus (Li *dkk.*, Gatli *dkk.*, Burr *dkk.*, Alejandro *dkk.*, Mathius, Mathius *dkk.*, Mahious, Mahious *dkk.* dalam Putra, 2010)

Pada konsentrasi prebiotik 15% terjadi penurunan populasi bakteri dalam saluran pencernaan udang uji disebabkan pada konsentrasi prebiotik tersebut diduga terjadi persaingan ruang yang mengakibatkan menurunnya populasi bakteri. Hasil ini hampir sama dengan hasil yang dilaporkan oleh Xu *dkk.* (2003), bahwa penambahan 4,0 g/kg fruktooligosakarida (FOS) dapat meningkatkan pertumbuhan *Bifidobacteria* dan *Lactobacillus*, tetapi penambahan sebanyak 8,0 g/kg tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kinerja dan mikroflora usus atau morfologinya.

2. Aktivitas Enzim protease

Aktivitas enzim protease dalam saluran pencernaan udang uji pada akhir pengamatan, disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan terdapat perbedaan aktivitas enzim protease dalam saluran pencernaan udang uji. Hasil ini menunjukkan

Tabel 3. Aktivitas enzim protease

Perlakuan	Aktivitas Enzim Protease
A	0,0029
B	0,00482
C	0,0068
D	0,005

adanya kecenderungan semakin tinggi konsentrasi penggunaan prebiotik pada pakan, dapat meningkatkan aktivitas enzim protease sampai pada batas konsentrasi prebiotik 10%. Peningkatan ini disebabkan oleh peningkatan pertumbuhan bakteri dalam saluran pencernaan udang uji (hasil pengukuran populasi bakteri pada Tabel 2). Namun demikian, hal ini tidak terjadi pada konsentrasi prebiotik yang lebih tinggi (15%). Hal ini diduga terjadi persaingan dalam ruang dan nutrisi. Menurut Xu *dkk.* (2003), dengan penambahan prebiotik sebesar 4 g/kg fruktooligosakarida (prebiotik) akan meningkatkan pertumbuhan probiotik (*Bifidobacteria* dan *Lactobacillus*) sedangkan ketika konsentrasi prebiotiknya (FOS) ditambahkan menjadi 8 g/kg memberikan hasil yang tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan probiotik di usus.

3. Kecernaan Protein

Rata-rata hasil pengukuran kecernaan protein pada akhir pengamatan disajikan pada Tabel 4.

Hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa perlakuan berbagai konsentrasi kacang hijau sebagai prebiotik berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kecernaan protein pakan oleh udang uji. Hasil uji lanjut W-Tukey menunjukkan bahwa kecernaan protein pakan pada perlakuan konsentrasi prebiotik 5 dan 10% berbeda dengan kecernaan protein pakan pada perlakuan

Tabel 4. Nilai Kecernaan Protein (%)

Perlakuan	Rata-rata \pm SD
A	46,112 \pm 2,826 ^{ab}
B	51,440 \pm 3,812 ^a
C	51,731 \pm 3,914 ^a
D	34,052 \pm 10,537 ^b

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan antar perlakuan ($p < 0,05$)

konsentrasi prebiotik 15%. Namun, kecernaan protein pakan pada perlakuan konsentrasi prebiotik 5% tidak berbeda dengan konsentrasi prebiotik 10%, sedangkan perlakuan tanpa penggunaan prebiotik (kontrol) tidak berbeda dengan semua perlakuan yang diberikan.

Tingginya tingkat kecernaan pada perlakuan konsentrasi prebiotik 10 dan 5% diduga berhubungan dengan tinggi populasi bakteri (Tabel 2), yang akhirnya berpengaruh terhadap aktivitas enzim protease (Tabel 3) dalam saluran pencernaan udang uji. Salah satu fungsi kerja probiotik dalam saluran pencernaan (Irianto, 2003; Verschuere *dkk.*, 2000) adalah merubah metabolisme mikrobial dengan meningkatkan aktivitas enzim exogenous. Enzim exogenous yang meningkat di dalam saluran pencernaan akan memperbaiki nilai nutrisi pakan sehingga meningkatkan kinerja pertumbuhan (Aslamyah; Ziaei *dkk.*; Wang; Dakar *dkk.*; Keysami *dkk.*; Taoka *dkk.*; Ghosh *dkk.*; Singh *dkk.* dalam Putra 2010).

Aktivitas enzim yang tinggi pada perlakuan konsentrasi prebiotik 10% berdampak pada tingkat kecernaan protein pakan, karena pada konsentrasi tersebut diduga memberikan keseimbangan probiotik dengan ketersediaan nutrisi (prebiotik) di dalam saluran pencernaan. Hal tersebut akan memacu peningkatan enzim

protease. Menurut Atlas *dkk.* (1984), mikrob proteolitik adalah mikrob yang mampu menghasilkan enzim protease yang akan merombak protein menjadi asam amino dan memanfaatkannya sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhannya.

KESIMPULAN

Populasi bakteri *L. lactis*, aktivitas enzim protease, dan kecernaan pakan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi prebiotik kacang hijau sampai pada konsentrasi 10% dalam pakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aslamyah S., 2006. Penggunaan Mikroflora Saluran Pencernaan sebagai Probiotik untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Ikan Bandeng. Disertasi. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Bergmeyer. H.U dan Grassi. M. 1983. Methods of Enzymatic Analysis. Volume ke-2 Weinheim: Verlag Chemie.
- Fratiwi, Yulneriwarni dan Noverita, 2008. Fermentasi Kefir dari Susu Kacang-kacangan. Fakultas Biologi Universitas Nasional, Jakarta. Vis Vitalis, Vol. 01 No. 2, Thn 2008.
- Garabal, J.I., Alonso, P.R., dan Centeno, J.A., 2007. Characterization of lactic acid bacteria isolated from raw cow's milk cheeses currently produced in Galicia (NW Spain). Swiss Soc. of Food Sci. and Technol.
- Haryati T., 2011. Probiotik dan Prebiotik sebagai Pakan Imbuhan Nonruminansia. Wartazoa Vol. 21 No. 3 Th. 2011. Bogor.
- Irianto A., 2003. Probiotik Akuakultur. Gadjah Mada University Press. 125 Halaman.

- Kementerian Kelautan Perikanan, 2012. <http://www.kkp.go.id/index.php/arsip/c/7519/Budidaya-Udang-Vannamei>. 12 maret 2015.
- Murni, 2004. Pengaruh Penambahan Bakteri Probiotik *Bacillus sp.* dalam Pakan Buatan terhadap Aktivitas Enzim Pencernaan, Efisiensi Pakan dan Pertumbuhan Ikan Gurame. Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Nopitawati T, 2010. Seleksi Bakteri Probiotik dari Saluran Pencernaan untuk Meningkatkan Kinerja Pertumbuhan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Piraino, P., Zotta, T., Ricciardi, A., McSweeney, P.L.H. dan Parente, E., 2008. Acids production, proteolysis, autolytic and inhibitory properties of lactic acid bacteria isolated from pasta filata cheese: A multivariate screening study. *Int. Dairy Journal* 18: 81-92
- Putra AN. 2010. Aplikasi Probiotik, Prebiotik dan Sinbiotik untuk Meningkatkan Kinerja Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Tesis. Bogor; Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Schrezenmeir J. Dan Vrese M., 2001. Probiotics, Prebiotics dan Synbiotic-Approaching a Definitions. *American Journal of Clinical Nutrition*. 73:2;361-364.
- Takeuchi T., 1988. Laboratory Work, Chemical Evaluation of Dietary Nutrients. Di dalam : Watanabe T, Editor. *Fish Nutrition and Mariculture*. Tokyo : departement of Aquatic Biosciences, University of Fisheries. Hlm 179-288.
- Verschuere L., Rombaut G., Sorgeloos P., Verstraete W., 2000. Probiotik Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. *Microbiological and Molecular Biology Review*, 64:655-671.
- Widanarni, MehaD., NuryatiS., Sukenda., dan SuwantoA., 2004. Uji Patogenisitas *Vibrio harveyi* pada Larva Udang Windu Menggunakan Resisten Rifampisin sebagai Penanda Molekuler. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 3(3):23-27.
- Widowati S dan Misgiyarta, 2003. Efektifitas Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam Pembuatan Produk Fermentasi Berbasis Protein/susu Nabati. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor.
- Xu, Z.R., C.H. Hu, M.S. Xia, X.A. Zhan dan M.Q. Wang. 2003. Effects of Dietary Fructooligosaccharides on Digestive Enzyme Activities, Intestinal Microflora and Morphology of Male Broiler. *Poult. Sci.* 82: 1030 –1036.
- Yusmarini, Retno Indrati, Tyas Utami, dan Yustinus Marsono, 2009. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Proteolitik dari Susu Kedelai yang Terfermentasi Spontan. *Jurnal Natur Indonesia* 12(1).