

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/ma>

PROBIOTIK INDIGENOUS *Bacillus* sp (NL004) YANG DIPERKAYA PADA LIMBAH CAIR TAHU (LCT) TERHADAP PERTUMBUHAN IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)

Agung Setia Abadi^{1*)}, Anik Martinah Hariati^{2**)}, Ating Yuniarti^{2**)}

^{1*)}Politeknik Kelautan dan Perikanan Sorong

^{2**)} Universitas Brawijaya Malang

(Naskah diterima: 10 Februari 2023, Revisi final: 27 Juni 2023, Disetujui publikasi: 10 Juli 2023)

ABSTRAK

Telah diketahui bahwa penambahan probiotik dipercaya meningkatkan keuntungan dengan cara meningkatkan pertumbuhan dan resistensi serangan penyakit pada ikan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas penambahan probiotik *indigenus* pada laju pertumbuhan spesifik ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Metode yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan dengan cara mengisolasi, karakterisasi, dan identifikasi bakteri *indigenus* dari usus ikan nila. Selanjutnya dilakukan kultur bakteri kandidat probiotik pada limbah cair tahu, dan dilakukan uji viabilitas pada pakan. Tahap selanjutnya dilakukan uji *in-vivo* dengan menggunakan rancangan acak lengkap yang diulang sebanyak dua kali. Perlakuan A tanpa penambahan probiotik, B dengan penambahan probiotik NL 004 10^7 cfu/ml/gr. Parameter uji yang dilakukan diantaranya sintasan, laju pertumbuhan spesifik, konversi pakan dan efisiensi pakan. Hasil uji menunjukkan bahwa penambahan C:N rasio pada LCT mempunyai waktu generasi sel lebih baik sebesar 0,29 (generasi/menit), viabilitas pada pakan menunjukkan pertumbuhan sel lebih baik pada dosis 10^7 cfu/ml/gr. Hasil uji karakter pertumbuhan ikan menunjukkan penambahan probiotik NL 004 meningkatkan laju pertumbuhan spesifik sebesar 2,44 %bb/hari, FCR menurun sebesar 1,09 dan meningkatkan efisiensi pakan sebesar 75,79%.

KATA KUNCI: *Bacillus* sp; *indigenus* probiotik; limbah tahu; nila (*Oreochromis niloticus*); pertumbuhan

ABSTRACT: *The Addition of Indigenous Probiotic Bacillus sp (NL004) Enriched in Tofu Liquid Waste (TLW) on Specific Growth Rate of Nile (Oreochromis niloticus)*

It is known that the addition of probiotics is believed to increase profits by increasing growth and disease resistance in fish. The purpose of this study was to determine the effectiveness of adding indigenous probiotics to the specific growth rate of tilapia (Oreochromis niloticus). The method used in this research is by isolating, characterizing, and identifying bacteria from the intestines of tilapia. Furthermore, probiotic candidate bacteria culture was carried out in tofu liquid waste (TLW), and viability tests were carried out on the feed. In the next stage is an in-vivo test using a completely randomized design which was two repetitions. Treatment A without the addition of probiotics, B with the addition of probiotics NL 004 10^7 cfu.ml⁻¹.gr⁻¹. The test parameters carried out include survival, specific growth rate, feed conversion, feed efficiency. The test results showed that the addition of C:N ratio in TLW had a better cell generation time of 0.29 (generation.min⁻¹), viability on feed showed better cell growth at a dose of 10^7 cfu.ml⁻¹.gr⁻¹. The results of the fish growth character test showed that the addition of probiotics increased the specific growth rate by 2.44 %w/day, decreased FCR by 1.09 and increased feed efficiency by 75.79%.

KEYWORDS: *Indigenous Probiotic; Bacillus sp; Growth; Nile (Oreochromis sp)*

Korespondensi: Agung Setia Abadi.
Politeknik Kelautan dan Perikanan Sorong, Papua Barat Raya,
Indonesia
E-mail: agungsb.asa@gmail.com

PENDAHULUAN

Produksi hasil budidaya ikan nila (*Oreochromis niloticus*) mengalami peningkatan paling tinggi pada tahun 2019 sebesar 1,43 juta ton. Sedangkan pada tahun 2021 menurun sebesar 0,2 juta ton dengan hasil produksi total 1,23 juta ton (Sadya Sarnita, 2022). Intensifikasi pada budidaya ikan nila di Indonesia akan meningkatkan resiko stres pada ikan dan lingkungan. Oleh karena itu peningkatan level sustainabel perlu ditingkatkan. Salah satu strategi alternatif yang dapat dilakukan adalah dengan cara menggunakan agen mikrobial seperti probiotik. Probiotik adalah mikroorganisme yang terdiri dari ragi (*yeast*) dan bakteri yang dapat ditambahkan untuk meningkatkan pertumbuhan dan resistensi terhadap penyakit (Abd El-Rhman *et al.*, 2009a). Saat ini, penggunaan probiotik dapat memperpendek waktu efisiensi produksi dibandingkan cara pemuliaan untuk memperoleh ikan unggul yang cepat tumbuh dan tahan terhadap penyakit (Gustiano, 2007).

Penambahan probiotik juga dapat meningkatkan keuntungan karena meningkatkan pertumbuhan dan resistensi terhadap serangan penyakit pada ikan, moluska dan udang (Addo *et al.*, 2016; Yamashita *et al.*, 2017). *Immune-nutrition* merupakan bentuk produksi budidaya dengan pertumbuhan optimal menggunakan kualitas pakan yang tinggi dan memberikan efek peningkatan sistem imun. Hal ini dapat dicapai dengan menggunakan mikroba saluran pencernaan (Adeoye *et al.*, 2016). Menurut Burr & Gatlin, (2005), efisiensi produksi budidaya nila sangat dipengaruhi oleh kesesuaian ransum pakan. Addo *et al.* (2016) mengemukakan bahwa penggunaan probiotik pada akuakultur dapat dilakukan dengan cara menambahkan dalam pakan. Untuk menghasilkan probiotik, *Micrococcus luteus* dan *Pseudomonas* sp. diisolasi dari intestin ikan nila (Abd El-Rhman *et al.*, 2009b). Sedangkan Lara-flores & Olvera-nova (2013) yang menggunakan bakteri asam laktat yang diisolasi dari intestin ikan nila dapat meningkatkan pertumbuhan 4.18 %bb/hari dan kesehatan ikan nila (*O. niloticus*). Penambahan multi probiotik *Bacillus velezensis*, *Bacillus cereus* dan *Lactobacillus casei* dengan kepadatan 107 cfu.gr⁻¹ meningkatkan laju pertumbuhan sebesar 3,89 %BW.day⁻¹ (Chen *et al.*, 2020).

Berbagai macam probiotik beredar di pasar dengan harga yang tidak murah. Untuk menurunkan biaya produksi dibutuhkan inovasi dengan cara membuat media hidup bakteri probiotik dari bahan buangan semisal limbah cair tahu (LCT). Beberapa limbah dapat digunakan menjadi media probiotik diantaranya air jerami, molase, dan limbah cair keju (Liu *et al.*, 2015). Hasil analisa limbah cair tahu memperlihatkan

kandungan nutrisi total C_{org} 0,16% dan N_{total} 0,02% (8:1). Di Kabupaten Jombang dalam satu hari rata-rata dihasilkan 3.000 liter limbah cair tahu. Inovasi penggunaan limbah cair tahu sebagai media bakteri probiotik akan sangat bermanfaat sebagai pengganti media umum TSB (*Tryptic Soy Broth*), maupun sebagai agen bioremediasi (Vine, 2004).

BAHAN DAN METODE

Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri dilakukan oleh Abadi *et al.* (2017) dengan cara mengambil sebanyak 1 gr usus ikan nila dan digerus hingga halus dan divortek kemudian diencerkan hingga 10²² dengan menggunakan NaFish. Setelah itu dilakukan isolasi dan identifikasi secara biokimia. Kemudian isolat bakteri *skrining* melalui uji antagonisme, uji karakter pertumbuhan, dan aktivitas enzim ekstraseluler. Setelah spesies *Bacillus* sp NL 004: terpilih, selanjutnya isolat disimpan dalam media Man Ragosa Sharpe Agar (MRSA) untuk perlakuan selanjutnya.

Preparasi bakteri probiotik pada limbah cair tahu

Peremajaan dilakukan selama penyimpanan untuk mendapat isolat yang muda. Isolat bakteri dikultur dalam medium limbah cair tahu (LCT) dengan konsentrasi C:N yang berbeda. Penanaman bakteri pada media LCT dilakukan dengan cara sterilisasi terlebih dahulu agar tidak terkontaminasi bakteri lain. Konsentrasi C:N yang digunakan yaitu 8:1 dan 10:1 yang dibuat dengan cara menambahkan sejumlah karbon yaitu yang berasal dari pupuk Amonium Sulfat (ZA) yaitu dengan cara menghitung kebutuhan sumber karbon (pati) sebesar 21 mg dan pupuk ZA sebesar 4,66 mg setelah itu dihomogenkan dan disterilisasi.

Uji Viabilitas *Bacillus* NL 004 pada pakan

Uji viabilitas bakteri pada pakan dilakukan dengan menambahkan bakteri hasil pengayaan pada media LCT dengan dosis 10⁶, 10⁷, dan 10⁸ cfu/ml/gr pada pakan dengan perlakuan lama masa penyimpanan 0 hari, 1 hari, dan 3 hari. Konsentrasi bakteri pada pakan selanjutnya diuji dengan menggunakan *total plate counte* (TPC) yang kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam.

Uji Invitro

Berdasarkan uji viabilitas maka didapatkan konsentrasi bakteri kandidat yang mampu tumbuh dan bertahan hingga tiga hari. Hasil tersebut dijadikan sebagai perlakuan dosis pada uji *in vivo* pada ikan Nila selama 30 hari masa pemeliharaan dengan menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri dari 2 perlakuan dan 3 kali ulangan. Metode yang digunakan

yaitu “pour atau tuang” dengan cara mengambil kultur bakteri dan menambahkan kedalam pakan menggunakan mikropipet dan diinkubasi selama tiga hari sebelum diberikan pada ikan yang dilakukan secara aseptis. Parameter utama yang diukur dalam percobaan ini meliputi sintasan, laju pertumbuhan spesifik, konversi pakan dan efisiensi pakan.

Statistical analysis

Data yang diperoleh diolah dan dianalisis menggunakan aplikasi SPSS 16 version. Data dilakukan uji normalitas dan ekualiti menggunakan Kolmogorov-Sirminov. Hasil uji dikatakan normal maka dilanjutkan dengan uji ANOVA (*one way analysis of variance*) menggunakan Duncan atau Tukey perbedaan nilai menunjukkan hasil uji berbeda nyata.

HASIL DAN BAHASAN

Karakter pertumbuhan bakteri pada C:N rasio limbah cair tahu

Hasil analisa LCT dalam satu liter memiliki kandungan C 0.16% : N 0.02% rasio 8:1. Hasil karakter pengkayaan bakteri menggunakan limbah cair tahu dengan modifikasi C:N rasio 10 disajikan pada Tabel 1. Karakter pertumbuhan antara dua C:N yang berbeda memperlihatkan bahwa C:N rasio 10:1 memiliki laju pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan kontrol. Hal ini karena C:N rasio memegang peranan dalam pembentukan sel dan merupakan promotor pada pertumbuhan bakteri. Bakteri menggunakan nitrogen untuk memproduksi protein selular, bakteri aerobik akan mengalami pertumbuhan dengan mensintesis polyhydroxybutyrate (Supono *et al.*, 2013; Vrede, 1998). Penambahan karbon organik akan menstimulasi pertumbuhan bakteri heterotrof, selain itu N anorganik dalam media juga diimobilisasi, yaitu dihambat pemanfaatannya atau lebih memanfaatkan bahan organik (Widanarni *et al.*, 2010).

Uji Viabilitas Bakteri

Uji viabilitas bakteri dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri bertahan hidup dan kepadatan mikroba dalam pakan. Hasil uji viabilitas bakteri

(Gambar 1) dalam pakan dengan kepadatan yang berbeda selama 3 hari masa inkubasi pada suhu 28°C didapatkan nilai yang berbeda. Nilai terendah pada perlakuan dosis 10^6 cfu.gr⁻¹, kemudian 10^7 cfu.gr⁻¹, dan tertinggi 10^8 cfu.gr⁻¹ pada hari pertama. Nilai yang cenderung stabil pada dosis 10^7 cfu.gr⁻¹. Nilai ini menjadi acuan untuk dosis probiotik pada pakan yang diberikan pada ikan nila selama 30 hari masa pemeliharaan dengan masa inkubasi yang terbaik.

Bakteri dalam pakan menghidrolisis protein sebagai sumber N untuk bertahan hidup. Kandungan protein yang terhidrolisis ini akan meningkatkan kandungan vitamin dan asam amino (NavinChandran *et al.*, 2014). Viabilitas bakteri mempengaruhi keefektifan dosis yang diberikan, selain itu dapat diketahui apakah bakteri yang diberikan dalam kondisi aktif atau tidak aktif (Anurogo, 2014; Newaj-Fyzul *et al.*, 2007).

Parameter pertumbuhan ikan

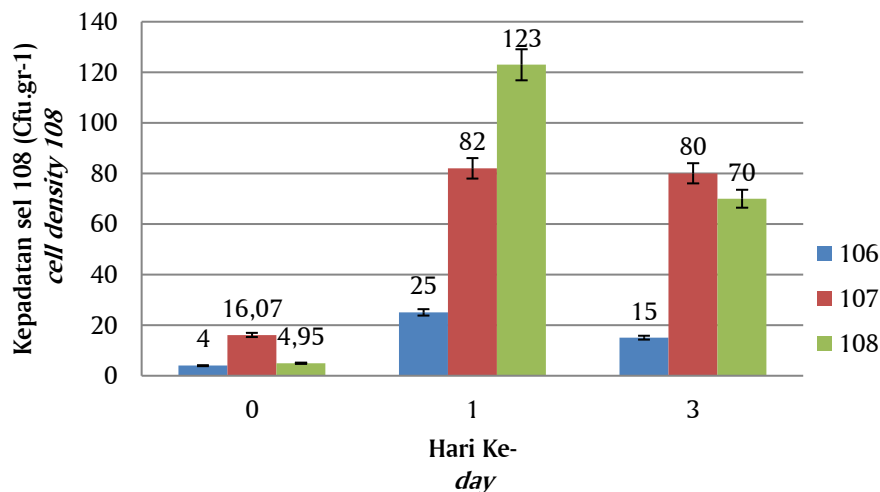
Analisis statistik menunjukkan hasil sintasan pada kontrol sebesar 94,67% sedangkan pada perlakuan sebesar 96% ($P > 0.05$). Probiotik yang diberikan tidak berbahaya pada ikan sehingga nilai sintasan sama baiknya. Sintasan pada ikan yang dipelihara dipengaruhi oleh cara adaptasi, ketersediaan dan kualitas nutrisi, hasil uji terdapat indikasi bahwa nutrisi yang diberikan mampu mencukupi kebutuhan hidup ikan (A. Abadi *et al.*, 2022). Protein pakan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sebesar 30,40 %, dengan kandungan protein tersebut ikan masih dapat hidup dalam kondisi normal. Beberapa referensi menunjukkan bahwa kebutuhan protein ikan nila yaitu 25%, 34%, hingga 45% (Gustiano dan Arifin, 2021).

Nilai laju pertumbuhan spesifik (LPS) pada kontrol sebesar 1,54%BW.day⁻¹ sedangkan perlakuan probiotik sebesar 2,44 %BW.day⁻¹ ($P > 0.05$). Dengan demikian pemberian probiotik dapat meningkat LPS sebesar 90 %BW.day⁻¹ karena penyerapan nutrisi yang lebih baik. Pada uji skrining didapatkan bahwa isolat mampu mendegradasi protein, lemak dan karbohidrat sehingga ketika isolat disuplementasi pada pakan akan

Tabel 1. Hasil uji karakter pertumbuhan bakteri pada media yang berbeda

Table 1. Test results for the character of bacterial growth on different media

Karakter Uji <i>Tested Characters</i>	Rasio konsentrasi C:N <i>C:N ratio Concentration</i>	
	Kontrol (0)	10
Pertumbuhan rata-rata (sel/menit) <i>Average growth (cells/minute)</i>	0,005	0,005
Fase lag (jam) <i>Lag phase (hours)</i>	5	5
Waktu Generasi (generasi/menit) <i>Generation Time (generation/minute)</i>	0,24	0,29



Gambar 1. Viabilitas bakteri kandidat dalam pakan
Figure 1. Viability of candidate bacteria in feed

Tabel 2. Hasil analisis parameter utama
Table 2. Main parameter analysis results

Parameter (Parameters)	Perlakuan (Treatment)	
	Kontrol (Control)	Probiotik (Probiotic) 10 ⁷ Cfu.gr ⁻¹
Sintasan (Survival Rate) (%)	94,67 ±4,16 ^a	96 ±3,46 ^a
Laju Pertumbuhan Spesifik (LPS) (Specific Growth Rate) (%BW.day ⁻¹)	1,54 ±0,08 ^a	2,44 ±0,04 ^a
Konversi pakan (Feed Conversion Ratio) (FCR)	1,23±0,088 ^a	1,09 ±0,021 ^b
Efisiensi pakan (Feed Efficiency) (FE) (%)	47,36 ±3,74 ^b	75,79 ±1,36 ^b

Keterangan: notasi yang berbeda menunjukkan hasil uji beda nyata pada taraf sig<0,05.

terjadi hidrolisis tiga komponen tersebut. Secara rinci dapat dilihat pada Tabel 2.

Menurut (Telli *et al.*, 2014) probiotik memodulasi pertumbuhan bakteri saluran pencernaan yang menghasilkan enzim pencernaan. Bakteri probiotik membantu menormalkan mikroflora dalam saluran pencernaan, meningkatkan nutrisi dengan cara detoksifikasi komponen-komponen umum dalam pakan bersamaan dengan memecah komponen yang sulit dicerna dengan enzim hidrolitik, seperti amilase, dan protease serta memproduksi vitamin seperti biotin dan vitamin B12 (Pirarat *et al.*, 2011).

Nilai konversi pakan pada kontrol sebesar 1,23 sedangkan pada perlakuan probiotik sebesar 1,09 (Pd⁰0.05). Suplementasi probiotik pada pakan dapat menurunkan nilai FCR sebesar 0,14. Pemberian probiotik pada pakan meningkatkan kualitas pakan sehingga menurunkan nilai konversi pakan. Probiotik mengeluarkan eksogenus enzim dalam skala yang luas yang dapat menyuplai enzim dalam saluran pencernaan

yang meningkatkan pertumbuhan dan menurunkan konversi pakan (Bagheri *et al.*, 2008).

Perbedaan nilai konversi pakan pada pemberian probiotik berasal dari kemampuan probiotik dalam mendegradasi serat yang merupakan salah satu komponen pelengkap dari aktivitas enzim *endogenous* dalam sistem pencernaan ikan (Adeoye *et al.*, 2016). Bakteri probiotik akan memproduksi asam lemak, penggunaan bakteri asam laktat sebagai probiotik akan meningkatkan produksi asam lemak sebesar 16,30 %. Komponen asam organik yang dihasilkan oleh probiotik akan menambah nilai dan meningkatkan pencernaan protein serta penyerapan mineral, sehingga nilai konversi pakan menjadi lebih baik (Selim & Reda, 2015).

Nilai efisiensi pakan dengan suplementasi probiotik diperoleh sebesar 47,37% pada kontrol dan perlakuan 10⁷cfu.gr⁻¹ sebesar 75,79%. Hasil analisa uji t suplementasi probiotik pada pakan berpengaruh nyata terhadap efisiensi pakan ^{sig<0,05}. Efisiensi pakan

mengalami peningkatan sebesar 28,43%. Nilai efisiensi pakan mengalami peningkatan karena pakan yang disuplementasi probiotik lebih mudah diserap. Hal ini menurut Iwashita *et al.* (2015), dipengaruhi oleh kemampuan probiotik dalam memfasilitasi penyerapan pakan dan peningkatan nutrisi dalam pakan. Efisiensi pakan diduga karena kemampuan probiotik yang mampu memodulasi bakteri saluran pencernaan, sehingga produksi *eksogenous* enzim meningkat (Han *et al.*, 2015). Selain itu, peningkatan efisiensi pakan juga terjadi karena adanya peningkatan hidrolisis asam amino dalam proses inkubasi probiotik pada pakan selama tiga hari, yang secara linier meningkatkan rasa dan bau dari pakan. Probiotik merupakan sumber vitamin, arabinosa dan berbagai macam oligosakarida (Hassaan *et al.*, 2014). Probiotik *Bacillus subtilis* 10⁸ cfu/gr akan meningkatkan aktivitas protease yang akan meningkatkan pencernaan protein sehingga efisiensi pakan meningkat (C. H. Liu *et al.*, 2004).

KESIMPULAN

Penambahan probiotik *indigenous* *Bacillus* sp NL 004 dengan kepadatan 10⁷ cfu/gr/ml pada pakan mampu meningkatkan laju pertumbuhan spesifik sebesar 2,44 %bb/hari, FCR menurun sebesar 1,09 dan meningkatkan efisiensi pakan sebesar 75,79%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Anik M. Hariati dan Ating Yuniarti atas bantuan dalam melakukan penelitian dan menulis artikel ini.

DAFTAR ACUAN

- Abadi, A., Romboisano, N. W., Lalaem, Y. M., Ernawati, Hismayasari, I. B., Puspitasari, A. W., & Saidin. (2022). Peningkatan Laju Pertumbuhan Spesifik Ikan Lele (*Clarias* sp) Dengan Suplementasi Vitamin C Pada Pakan. *Journal of Fish Nutrition*, 2(1), 89–100. <https://doi.org/10.29303/jfn.v2i1.1383>
- Abadi, A. S., Hariati, A. M., & Yuniarti, A. (2017). Screening of *Indigenous* Bacteria in Tilapia (*Oreochromis* sp) as a Probiotic Candidate. *Imperial Journal of Interdisciplinary Research (IJIR)*, 3(2), 52–56. <http://www.onlinejournal.in>
- Abd El-Rhman, A. M., Khattab, Y. A. E., & Shalaby, A. M. E. (2009a). *Micrococcus luteus* and *Pseudomonas* species as probiotics for promoting the growth performance and health of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish and Shellfish Immunology*, 27(2), 175–180. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.03.020>
- Abd El-Rhman, A. M., Khattab, Y. A. E., & Shalaby, A. M. E. (2009b). *Micrococcus luteus* and *Pseudomonas* species as probiotics for promoting the growth performance and health of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish and Shellfish Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.03.020>
- Addo, S., Carrias, A. A., Williams, M. A., Liles, M. R., Terhune, J. S., & Davis, D. A. (2016). Effects of *Bacillus subtilis* Strains on Growth, Immune Parameters, and *Streptococcus iniae* Susceptibility in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of The World Aquaculture Society*. <https://doi.org/10.1111/jwas.12380>
- Adeoye, A. A., Yomla, R., Jaramillo-Torres, A., Rodiles, A., Merrifield, D. L., & Davies, S. J. (2016). Combined effects of exogenous enzymes and probiotic on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth, intestinal morphology and microbiome. *Aquaculture*, 463, 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.05.028>
- Anurogo, D. (2014). *Probiotik: Problematika dan Progresivitasnya*. 27(3).
- Bagheri, T., Hedayati, S. A., Yavari, V., Alizade, M., & Farzanfar, A. (2008). Growth, survival and gut microbial load of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) fry given diet supplemented with probiotic during the two months of first feeding. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48(1), 43–48.
- Burr, G., & Gatlin, D. (2005). Microbial Ecology of the Gastrointestinal Tract of Fish and the Potential Application of Prebiotics and Probiotics in Finfish Aquaculture. *Journal of The World Aquaculture Society*, 36(4), 425–436.
- Chen, X., Zhang, Z., Fernandes, J. M. O., Gao, Y., Yin, P., Liu, Y., Tian, L., Xie, S., & Niu, J. (2020). Beneficial effects on growth, haematic indicators, immune status, antioxidant function and gut health in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by dietary administration of a multi-strain probiotic. *Aquaculture Nutrition*, 00(August 2019), 1–14. <https://doi.org/10.1111/anu.13094>
- Gustiano, R. (2007). Perbaikan mutu genetik ikan nila. *Makalah bidang budidaya. Simposium Badan Riset Kelautan dan Perikanan*, 7.
- Gustiano, R., & Arifin, O. Z. (2021). *Menjaring Laba dari Budi Daya Nila BEST*. PT Penerbit IPB Press.
- Han, B., Long, W., He, J., Liu, Y., Si, Y., Tian, L., Immunology, S., W-q, L., J-y, H., Y-j, L., Y-q, S., & L-x, T. (2015). Effects of dietary *Bacillus licheniformis* on growth performance, immunological parameters, intestinal morphology and resistance of juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish and Shellfish Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.06.018>

- Hassaan, M. S., Soltan, M. A., & Ghonemy, M. M. R. (2014). Effect of synbiotics between *Bacillus licheniformis* and yeast extract on growth, hematological and biochemical indices of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 40(2), 199–208. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2014.04.001>
- Iwashita, M. K. P., Nakandakare, I. B., Terhune, J. S., Wood, T., & Ranzani-Paiva, M. J. T. (2015). Dietary supplementation with *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* enhance immunity and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus iniae* infection in juvenile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fish and Shellfish Immunology*, 43(1). <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.12.008>
- Lara-flores, M., & Olvera-novoa, M. A. (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. *Uso de bacterias ácido lácticas aisladas del tracto intestinal de tilapia nilótica (Oreochromis niloticus)*. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 41(3), 490–497. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=175028146012>
- Liu, C. H., Cheng, W., Kuo, C. M., & Chen, J. C. (2004). Molecular cloning and characterisation of a cell adhesion molecule, peroxinectin from the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1050464803002031>
- Liu, J. J., Liu, X. P., Ren, J. W., Zhao, H. Y., Yuan, X. F., Wang, X. F., Salem, A. Z. M., & Cui, Z. J. (2015). The effects of fermentation and adsorption using lactic acid bacteria culture broth on the feed quality of rice straw. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(3), 503–513. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)60831-5](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60831-5)
- NavinChandran, M., Iyapparaj, P., Moovendhan, S., Ramasubburayan, R., Prakash, S., Immanuel, G., & Palavesam, A. (2014). Influence of probiotic bacterium *Bacillus cereus* isolated from the gut of wild shrimp *Penaeus monodon* in turn as a potent growth promoter and immune enhancer in *P. monodon*. *Fish and Shellfish Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.10.004>
- Newaj-Fyzul, A., Adesiyun, A. A., Mutani, A., Ramsubhag, A., Brunt, J., & Austin, B. (2007). *Bacillus subtilis* AB1 controls *Aeromonas* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of Applied Microbiology*, 103(5), 1699–1706. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03402.x>
- Pirarat, N., Pinpimai, K., Endo, M., Katagiri, T., Ponpornpisit, A., Chansue, N., & Maita, M. (2011). Modulation of intestinal morphology and immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Research in Veterinary Science*. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.02.014>
- Sadya Sarnita (2022), Produksi Ikan Nila Indonesia Sebanyak 1,35 Juta Ton pada 2021. DataIndonesia.id <https://dataindonesia.id/agribisnis-kehutanan/detail/produksi-ikan-nila-indonesia-sebanyak-135-juta-ton-pada-2021>
- Selim, K. M., & Reda, R. M. (2015). Improvement of immunity and disease resistance in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* by dietary supplementation with *Bacillus amyloliquefaciens*. *Fish and Shellfish Immunology*, 44, 496–503. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.03.004>
- Supono, Hutabarat, J., Prayitno, S. B., & Darmanto, Y. S. (2013). The Effect Of Different C/ : N and C/ : P Ratio Of Media On The Content Of Polyhydroxybutyrate In Biofloc. *Journal of Coastal Development*, 16(2), 114–120. <https://doi.org/ISSN: 1410-5217>
- Telli, G. S., Ranzani-Paiva, M. J. T., Dias, D. de C., Sussel, F. R., Ishikawa, C. M., & Tachibana, L. (2014). Dietary administration of *Bacillus subtilis* on hematology and non-specific immunity of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised at different stocking densities. *Fish and Shellfish Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.05.025>
- Vine, N. G. (2004). *Towards The Development Of A Protocol For The Selection Of Probiotics In Marine Fish Larviculture* (Issue December) [Rhodes University]. <https://core.ac.uk/download/pdf/145047221.pdf>
- Vrede, T. (1998). *Elemental composition (C / : N / : P) and growth rates of bacteria and Rhodomonas grazed by Daphnia*. 20(3), 455–470.
- Widanarni, Yuniasari, D., Sukenda, & Ekasari, J. (2010). Nursery Culture Performance of *Litopenaeus vannamei* with Probiotics Addition and Different C / N Ratio Under Laboratory Condition. *HAYATI Journal of Biosciences*, 17(3), 115–119. <https://doi.org/10.4308/hjb.17.3.115>
- Yamashita, M. M., S.A. Pereira, L. C., Araujo, A. . de, Oda, C. E., Schmidt, E. C., Baouzon, Z. L., Martins, M. L., & Mourino, J. L. P. (2017). Probiotic dietary supplementation in Nile tilapia as prophylaxis against streptococcosis. *Aquaculture Nutrition*, February 2016, 1–9. <https://doi.org/10.1111/anu.12498>