

Ikan nila GIFT *Oreochromis niloticus* yang diberi pakan mengandung probiotik

GIFT Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed on diet containing probiotic

Petrus Hary Tjahja Soedibya

Program Studi Budidaya Perikanan, Fakultas Sains Teknik, Universitas Jenderal Soedirman

Jalan Dr. Soeparno Purwokerto, Jawa Tengah 53123

*Surel: hary_tjahja@yahoo.co.id

ABSTRACT

This research was conducted to evaluate the effect of the diet containing probiotic on Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish with an initial body weight of 3.62 ± 1.33 g were fed on diet supplemented with either 0%, 10%, 15%, 20% of probiotic. Results showed that fish fed on the diet supplemented with 15% of probiotic had the highest protein retention and specific growth rate, which were $16.48 \pm 0.49\%$ and $17.65 \pm 0.9\%$ /day respectively.

Keywords: probiotic, *Azola* meal, protein retention, specific growth rate

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek pemberian pakan mengandung probiotik pada ikan nila, *Oreochromis niloticus*. Ikan dengan bobot awal $3,62 \pm 1,33$ g diberi pakan mengandung 0%, 10%, 15%, 20% probiotik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ikan yang diberi pakan mengandung 15% probiotik memiliki retensi protein dan laju pertumbuhan tertinggi masing-masing dengan nilai $16,48 \pm 0,49\%$ dan $17,65 \pm 0,9\%$ /hari.

Kata kunci: probiotik, tepung *Azola*, retensi protein, laju pertumbuhan harian

PENDAHULUAN

Saat ini jenis ikan nila GIFT (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu ikan air tawar yang sangat digemari oleh masyarakat, sehingga dijadikan peluang bagi petani ikan untuk meningkatkan produktivitas kolamnya. Oleh karena itu ketersediaan ikan nila ukuran konsumsi perlu ditingkatkan. Upaya untuk memenuhi kebutuhan pasar ikan nila dapat dimulai dengan melakukan penelitian mengenai pakan alternatif sebagai upaya untuk memacu laju tumbuh dan efisiensi usaha. Pakan yang akan dihasilkan diharapkan dapat memanfaatkan ketersediaan bahan lokal dan memiliki kualitas nutrisi yang baik.

Pakan buatan atau pelet komersial yang dipasarkan sering menjadi kendala bagi para petani ikan akibat tingginya harga sehingga perlu dilakukan upaya penyediaan pakan buatan alternatif (Du & Niu, 2003; Garcia-Ulloa *et al.*, 2003; Thiessen & Maenz, 2005). Hasil penelitian Tangko *et al.* (2007) menyatakan bahwa sebagian pelet yang beredar di pasaran memiliki kualitas

nutrisi yang rendah, yaitu kandungan protein hanya 19%. Rendahnya kandungan nutrisi tersebut diduga karena beberapa faktor antara lain: penanganan pelet yang kurang tepat serta tidak adanya informasi mengenai batas waktu pemakaiannya.

Secara umum kualitas pakan dilihat dari kandungan proteinnya. Semakin tinggi kandungan protein, maka harga pakan tersebut semakin mahal karena harga tepung ikan saat ini relatif tinggi. Hal ini disebabkan karena perairan pantai kita sudah mengalami *over fishing* dan bahan baku untuk pakan ikan bersifat kompetitif dengan manusia. Berdasarkan fenomena tersebut, maka perlu dilakukan upaya mencari alternatif bahan baku pakan. Salah satu yang dapat dilakukan adalah dengan menguji penggunaan tepung *Azola* (*Azola pinnata*) yang keberadaannya melimpah di perairan umum. Pemilihan bahan dasar pakan menggunakan *Azola* didasari hasil penelitian Alalade dan Iyayi (2006) yang menyatakan bahwa kandungan protein *Azola* cukup tinggi yaitu 21,4% dari berat kering. Tepung *Azola* tersebut diharapkan dapat mengurangi penggunaan tepung

kedelai yang dirasakan masih kompetitif dengan kebutuhan manusia. Upaya untuk meningkatkan nilai nutrisi tepung *Azola* dapat dilakukan dengan cara menambahkan mikroba probiotik di dalamnya.

Probiotik dapat didefinisikan sebagai suplementasi sel mikroba utuh (tidak harus hidup) atau komponen sel mikroba pada pakan atau lingkungan hidup yang menguntungkan inangnya (Nikoskelainen *et al.*, 2003; Ghosh *et al.*, 2007; Gatesoupe, 2008; Rurangwa *et al.*, 2009). Mikroorganisme yang umum digunakan sebagai probiotik adalah bakteri seperti *Bacillus* sp. (Tseng *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2009), *Lactobacillus* (Arndt *et al.*, 2007; Selvan *et al.*, 2011), *Saccharomyces cerevisiae* (Wache *et al.*, 2006; Abdel-Tawwab *et al.*, 2008; Chiu *et al.*, 2010), *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter* (Farzanfar, 2006; Panigrahi & Azad, 2007). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa penggunaan probiotik mampu memberikan keuntungan pada budidaya ikan nila antara lain meningkatkan sistem imun dan resistensi terhadap penyakit (Pirarat *et al.*, 2006; Aly *et al.*, 2008a), meningkatkan pertumbuhan (Lara-Flores *et al.*, 2003; El-Haroun *et al.*, 2006), dan meningkatkan tingkat kelangsungan hidup ikan (Aly *et al.*, 2008b).

Mikroba probiotik lokal dalam penggunaannya diharapkan sesuai dengan prinsip ekologi, yaitu pengembangan budidaya yang ramah dan berkelanjutan. Hasil terapan mikroba simbiosis (Simba) diharapkan dapat memacu pertumbuhan ikan sehingga produksi meningkat dan kebutuhan pasar dapat terpenuhi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian tepung *Azola* dalam pakan yang diperkaya dengan mikroba probiotik terhadap nilai retensi protein dan pertumbuhan laju spesifik harian pada ikan nila GIFT. Penelitian ini juga diharapkan dapat mengetahui apakah tepung *Azola* dapat menggantikan peran tepung kedelai sebagai bahan baku pakan ikan

BAHAN DAN METODE

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian adalah benih ikan nila GIFT dengan ukuran $3,62 \pm 1,33$ g sebanyak 200 ekor yang diperoleh dari kawasan sentra perikanan budidaya Beji, Purwokerto. Tumbuhan *Azola* diperoleh dari persawahan Desa Beji, Purwokerto. Komposisi pakan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tepung ikan, tepung kedelai, tepung *Azola*, dedak,

tepung tapioka, vitamin *mix* dan mineral *mix* serta mikroba probiotik (Simba) yang diproduksi oleh Pusat Penelitian Antar Universitas (PPAU) Ilmu Hayati ITB. Penelitian dilakukan menggunakan bak berukuran 1×2 m² dengan ketinggian air 50 cm, dan kepadatan ikan 20 ekor/bak. Pakan diberikan sebanyak 4% dari total biomassa, dua kali dalam sehari (pagi pukul 09.00 dan sore pukul 16.00). Perhitungan mengenai retensi protein dilakukan dengan membandingkan pertambahan protein tubuh dan protein yang terkonsumsi

Penelitian ini dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan dan empat kali ulangan selama empat bulan. Adapun perlakuan yang diujikan adalah sebagai berikut:

T0 : Ransum tepung *Azola* tanpa mikroba probiotik (kontrol)

T1 : Ransum tepung *Azola* dengan penambahan probiotik 10% pada ransum

T2 : Ransum tepung *Azola* dengan penambahan probiotik 15% pada ransum

T3 : Ransum tepung *Azola* dengan penambahan probiotik 20% pada ransum

Pemberian probiotik pada pakan dilakukan berdasarkan dosis perlakuan. Pada perlakuan T1, pelet sebanyak 100 g dicampurkan dengan 10% (10 mL) probiotik lalu dicampur merata dan dikeringkan pada temperatur ruang selama dua jam. Cara pencampuran tersebut juga dilakukan untuk perlakuan yang lain.

Data retensi protein dan laju pertumbuhan spesifik (LPS) dikumpulkan dan dianalisis dengan analisis sidik ragam (ANOVA) menggunakan uji F dengan tingkat kesalahan 5%. Apabila hasil uji F menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata antar perlakuan, maka analisis dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT).

Retensi protein

Retensi protein dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\frac{\text{Pertambahan protein tubuh (g)}}{\text{Protein yang dikonsumsi}} \times 100$$

Pertambahan protein tubuh ikan dihitung dengan cara mengalikan berat kering tubuh ikan akhir penelitian dengan kadar protein tubuh akhir penelitian, dikurangi berat kering tubuh awal penelitian dikalikan kadar protein awal penelitian. Protein yang terkonsumsi dihitung dengan mengalikan pakan yang terkonsumsi dengan kadar protein dalam pakan.

Laju pertumbuhan spesifik

Laju pertumbuhan spesifik (LPS) dihitung dengan rumus Effendie (1997) sebagai berikut:

$$LPS = (\ln W_o - \ln W_t \times 100) / T$$

Keterangan:

LPS : laju pertumbuhan spesifik (%/hari)

W_o : bobot ikan awal (g)

W_t : bobot ikan akhir (g)

T : waktu pemeliharaan (hari)

Pakan ikan

Komposisi dan nilai nutrisi pakan yang diujikan dalam penelitian ini mengacu pada hasil penelitian Haetami dan Sastrawibawa (2005), yaitu pemberian tepung *Azola* sebanyak 14% mampu memberikan nilai pencernaan yang terbaik. Komposisi pakan uji tersaji dalam Tabel 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Retensi protein

Kontribusi protein pakan yang dikonsumsi oleh ikan nila GIFT dapat mencerminkan besarnya nilai pertambahan protein tubuh atau yang disebut sebagai retensi protein (Ballestrazzi *et al.*, 1994). Penelitian ini menunjukkan bahwa besarnya retensi protein yang tertinggi ($P < 0,05$) ditunjukkan pada perlakuan T2 $16,48 \pm 0,49\%$ dan diikuti perlakuan T3 sebesar $10,32 \pm 0,41\%$, T1 $9,97 \pm 0,61\%$ dan T0 $7,40 \pm 0,44\%$ (Gambar 1).

Tabel 1. Komposisi dan kandungan nutrisi bahan pakan

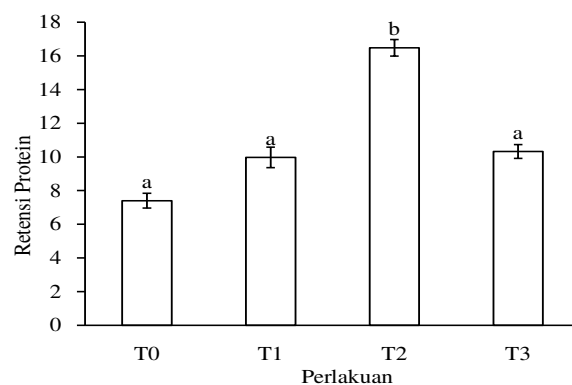
Bahan penyusun pakan	Kandungan (%)
Tepung <i>Azola</i>	30,0
Tepung kedelai	30,0
Tepung ikan	18,0
Dedak halus	15,0
Minyak ikan	1,0
Top mix	1,0
CMC	5,0
Jumlah	100,0
Kandungan nutrisi bahan pakan (%)	
Kandungan protein	25,4
Kandungan lemak	4,89
Kandungan serat kasar	16,22
Abu	14,07
BETN	39,42

Keterangan: CMC: karboksi metil selulosa; BETN: bahan ekstrak tanpa nitrogen.

Peningkatan retensi protein pada hasil perlakuan disebabkan karena penambahan mikroba probiotik terbukti mampu membantu menguraikan bahan pakan yang khususnya serat kasar. Hanya saja semakin banyak penambahan probiotik (perlakuan T3) tidak semakin baik dalam menguraikan serat kasar. Pemberian probiotik sebanyak 15% melalui perlakuan T2 adalah yang terbaik.

Berdasarkan hasil penelitian Haetami dan Sastrawibawa (2005) dilaporkan bahwa kemampuan daya cerna ikan bawal air tawar (*Colossoma macropomum*) yang diberi pakan *Azola* relatif rendah mengingat kandungan serat kasar dalam pakan yang tinggi. Selanjutnya dilaporkan Handayani (2006) bahwa tanaman *Azola* diketahui mengandung serat kasar sebesar 23,06 % dan nilai tersebut cukup tinggi. Hal inilah yang memberi alasan cukup kuat bahwa bahan dasar pakan yang bersumber dari tanaman *Azola* akan memberikan pengaruh pada proses pencernaan, sehingga dapat berpengaruh pada laju pertumbuhan. Tingginya penggunaan energi yang digunakan untuk proses pencernaan dapat memengaruhi pertumbuhan ikan tersebut.

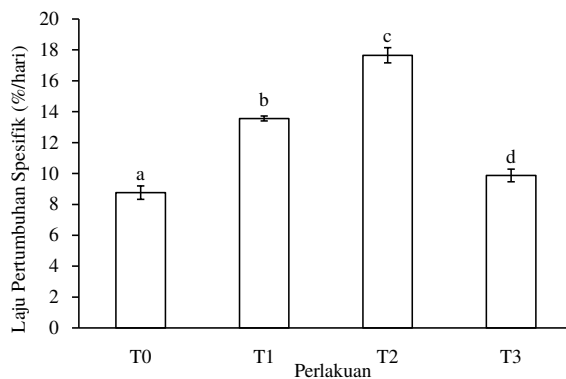
Pemberian mikroba sebanyak 15% (T2) dalam ransum pakan memberikan retensi protein dalam tubuh ikan yang paling baik. Hal ini disebabkan bahwa penambahan sebanyak 15% mikroba untuk membantu penguraian bahan pakan sangat tepat. Menurut Wang *et al.* (2008) mikroba probiotik pada umumnya mengandung bakteri *Bacillus* yang mampu menguraikan protein menjadi asam amino. Asam amino inilah yang digunakan bakteri



Gambar 1. Retensi protein ikan nila GIFT (*Oreochromis niloticus*) yang diberi: ransum tepung *Azola* tanpa mikroba probiotik/kontrol (T0), ransum tepung *Azola* dengan penambahan probiotik 10% (T1), ransum tepung *Azola* dengan penambahan probiotik 15% (T2), dan ransum tepung *Azola* dengan penambahan probiotik 20% (T3). Keterangan: huruf berbeda diagram batang menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,05$).

untuk memperbanyak diri. Bakteri merupakan sumber protein sel tunggal sehingga perbanyak diri bakteri dapat meningkatkan protein pakan. *Bacillus* merupakan bakteri asakarolitik yang mampu menguraikan disakarida atau polisakarida menjadi gula sederhana. Selain itu *Bacillus* merupakan bakteri pektinolitik, yaitu organisme yang dapat menghasilkan pektin atau karbohidrat kompleks (Kobayashi *et al.*, 2003; Blair & Aalten; 2004; Ashraf *et al.*, 2005; Soriano *et al.*, 2006; Klug-Santner *et al.*, 2006; Rehman *et al.*, 2012). Sifat bakteri *Bacillus* yang proteolitik, sakarolitik dan pektinolitik mampu mempengaruhi kualitas pakan dengan meningkatkan kadar protein dan karbohidrat.,

Retensi protein mengekspresikan besarnya tambahan protein tubuh dari protein pakan yang dikonsumsi. Pakan yang dikonsumsi merupakan sumber protein yang digunakan untuk pemeliharaan, aktivitas metabolisme dan pertumbuhan (Cui *et al.*, 1992). Tingginya retensi protein pada perlakuan T2 disebabkan karena meningkatnya kandungan protein dan karbohidrat oleh aktivitas mikroba probiotik yang ditambahkan. Selain itu, peran probiotik adalah membantu penggunaan energi dalam proses pencernaan bahan pakan. Dampak pemberian mikroba probiotik sebanyak 15% memberikan penghematan energi untuk proses pencernaan (metabolisme) yang selanjutnya menghasilkan retensi protein dalam tubuh ikan yang paling baik. Sementara itu, penambahan mikroba probiotik pada pakan ikan nila sebesar kurang dari 10% belum memberikan hasil yang nyata pada ikan nila (Arief *et al.*, 2008).



Gambar 2. Laju pertumbuhan spesifik ikan nila GIFT (*Oreochromis niloticus*) yang diberi: ransum tepung *Azola* tanpa mikroba probiotik/kontrol (T0), ransum tepung *Azola* dengan penambahan probiotik 10% (T1), ransum tepung *Azola* dengan penambahan probiotik 15% (T2), dan ransum tepung *Azola* dengan penambahan probiotik 20% (T3). Keterangan: huruf berbeda diatas diagram batang menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,05$).

Laju pertumbuhan spesifik

Berdasarkan hasil perhitungan mengenai laju pertumbuhan spesifik ikan nila GIFT selama penelitian menunjukkan bahwa perlakuan dengan pemberian probiotik sebanyak 15% adalah yang terbaik (Gambar 2). Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa semua perlakuan dalam penelitian ini memberikan perbedaan yang sangat nyata terhadap pertumbuhan ikan nila GIFT. Pada perlakuan T2 yaitu pemberian pakan dengan pengayaan mikroba probiotik sebesar 15% menghasilkan pertumbuhan yang paling baik.

Secara teoritis ikan nila GIFT yang mengonsumsi pakan yang tersusun serat kasar yang tinggi, maka akan memiliki nilai daya cerna yang rendah (Haetami & Sastrawibawa, 2005). Akibat dari rendahnya nilai kecernaan pakan ini, energi yang digunakan untuk proses metabolisme sangat tinggi, sehingga porsi energi yang diperuntukkan pertumbuhan menjadi berkurang. Penelitian yang dilakukan Handayani (2006) menyebutkan bahwa kandungan serat kasar yang tinggi akan mempercepat laju perjalanan makanan di dalam saluran pencernaan yang berdampak pada menurunnya kesempatan saluran cerna zat-zat makanan lainnya dalam pakan. Pada pemberian mikroba probiotik sebanyak 15% mampu menghasilkan pertumbuhan yang terbaik. Pada pemberian probiotik sebanyak 10% dan 20% terjadi penguraian terhadap unsur nutrisi pakan, dibandingkan dengan perlakuan tanpa pemberian probiotik (kontrol).

Salah satu nutrisi yang harus terpenuhi dalam pakan adalah protein. Protein yang terdapat dalam pakan digunakan untuk menghasilkan pertumbuhan. Menurut Handayani (2006) mikroba probiotik yang diberikan pada *Azola* untuk pakan mampu berperan dalam meningkatkan kualitas pakan. Hal ini diekspresikan melalui tingginya daya cerna. Tingginya nilai daya cerna pakan akan diikuti oleh tingginya laju pertumbuhan. Tingginya daya cerna pakan tersebut menunjukkan alokasi energi untuk pertumbuhan lebih besar dibandingkan untuk kegiatan metabolisme. Pemberian mikroba probiotik sebesar 15% mampu membantu proses pencernaan secara maksimal sehingga pertumbuhan ikan nila GIFT memiliki laju pertumbuhan yang terbaik. Penelitian yang dilakukan oleh Handayani (2006) dan Arief *et al.* (2008) menyatakan bahwa peran mikroba probiotik dalam pakan ikan mampu memecah unsur nutrisi yang lebih sederhana, sehingga sangat membantu proses pencernaan dan penyerapan nutrisi yang lebih baik.

Hasil penelitian yang dilakukan Ballestrazzi *et al.* (1994) menunjukkan bahwa retensi protein merupakan parameter untuk menunjukkan besarnya kontribusi protein yang dikonsumsi dalam pakan pada penambahan protein tubuh. Retensi protein perlu mendapat perhatian secara khusus untuk melihat kontribusi protein yang dikonsumsi dalam pakan terhadap penambahan tubuh ikan. Nilai retensi protein juga menunjukkan kualitas protein dalam pakan, semakin tinggi nilai retensi protein maka pakan semakin baik. Hubungan antara nilai retensi protein dan laju pertumbuhan spesifik ikan nila dalam penelitian ini adalah berkolerasi positif. Pemberian ransum pakan yang diberi mikroba probiotik sebanyak 15% menghasilkan laju pertumbuhan spesifik yang terbaik. Penelitian yang dilakukan Haetami dan Sastrawibawa (2005) menunjukkan bahwa pemberian 6% mikroba probiotik belum menunjukkan pertumbuhan yang baik. Rendahnya pertumbuhan tersebut diduga akibat belum cukup meningkatnya aktivitas bakteri untuk membantu proses penguraian zat gizi menjadi yang lebih sederhana

KESIMPULAN

Pemberian pakan yang mengandung probiotik sebesar 15% memberikan nilai retensi protein dan laju pertumbuhan spesifik yang terbaik. Peningkatan kadar probiotik lebih dari 15% menurunkan kinerja pertumbuhan ikan nila.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Tawwab M, Abdel-Rahman AM, Ismael NE. 2008. Evaluation of commercial live bakers' yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture* 280: 185–189.
- Alalade OA, Iyayi EA. 2006. Chemical composition and the feeding value of *Azolla pinnata* meal for egg-type chicks. *International Journal of Poultry Science* 5: 137–141.
- Aly SM, Ahmed YAG, Ghareeb AAA, Mohamed MF. 2008a. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus* as potential probiotics, on the immune response and resistance of Tilapia nilotica *Oreochromis niloticus* to challenge infections. *Fish and Shellfish Immunology* 25: 128–136.
- Aly SM, Mohamed MF, John G. 2008b. Effect of probiotics on the survival, growth and challenge infection in Tilapia nilotica *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Research* 39: 647–656.
- Arief M, Mufidah, Kusriningrum. 2008. Pengaruh penambahan probiotik pada pakan buatan terhadap pertumbuhan dan rasio konversi pakan ikan nila GIFT. *Berkala Ilmiah Perikanan* 3: 53–58.
- Arndt RE, Wagner EJ. 2007. Enriched *Artemia* and probiotic diets improve survival of Colorado River cutthroat trout larvae and fry. *North American Journal of Aquaculture* 69: 190–196.
- Ashraf H, Qadeer MA, Iqbal J. 2005. Pearl millet, a source of alpha amylase production by *Bacillus licheniformis*. *Bioresource Technology* 96: 1.201–1.204.
- Ballestrazzi RD, Lannari ED'agoro, Mion A. 1994. The effect of dietary protein level and source on growth and body composition, total ammonia, and relative phosphate excretion of growing sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 127: 197–206.
- Blair DE, van Aalten DM. 2004. Structures of *Bacillus subtilis* PdaA, a family 4 carbohydrate esterase, and a complex with N-acetylglucosamine. *FEBS Letters* 570: 13–19.
- Chiu CH, Cheng CH, Gua WR, Guu YK, Cheng W. 2010. Dietary administration of the probiotic *Saccharomyces cerevisiae* P13, enhanced the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper, *Epinephelus coioides*. *Fish and Shellfish Immunology* 29: 1.053–1.059.
- Cui YX, Liu SW, Chen S. 1992. Growth and energy budget in young grass carp *Ctenopharyngodon idella* Val. feed plant and animal diets. *Journal of Fish Biology* 41: 231–238.
- Du L, Niu CJ. 2003. Effects of dietary substitution of soya bean meal for fishmeal on consumption, growth, and metabolism of juvenile giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture Nutrition* 9: 139–143.
- Effendie I. 1997. *Biologi Perikanan*. Yogyakarta: Yayasan Pustaka Nusatama.
- El-Haroun ER, Goda AS, Chowdhury K. 2006. Effect of dietary probiotic Biogen® supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture Research* 37: 1.473–1.480.
- Farzanfar A. 2006. The use of probiotics in shrimp aquaculture. *FEMS Immunology and Medical*

- Microbiology 48: 149–158.
- Garcia-Ulloa GM, Lopez-Chavarin HM, Rodriguez-Gonzalez H, Villarreal-Colmenares H. 2003. Growth of redclaw *Cherax quadricarinatus* (Von Martens 1868) (Decapoda: Parastacidae) juveniles fed isoproteic diets with partial or total substitution of fishmeal by soya bean meal: preliminary study. *Aquaculture Nutrition* 9: 25–31.
- Gatesoupe FJ. 2008. Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: natural occurrence and probiotic treatments. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology* 14: 107–114.
- Ghosh S, Sinha A, Sahu C. 2007. Effect of probiotic on reproductive performance in female live bearing ornamental fish. *Aquaculture Research* 38: 518–526.
- Haetami K, Sastrawibawa S. 2005. Evaluasi pencernaan tepung *Azola* dalam ransum ikan bawal air tawar *Colossoma macropomum* Cuvier (1818). Jatinangor: Universitas Padjadjaran.
- Handajani H. 2006. Pemanfaatan tepung *Azolla* sebagai penyusun pakan ikan terhadap pertumbuhan dan daya cerna ikan nila GIFT. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- Irianto A. 2003. Probiotik Akuakultur. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Klug-Santner BG, Schnitzhofer W, Vršanská M, Weber J, Agrawal PB, Nierstrasz VA, Guebitz GM. 2006. Purification and characterization of a new bioscouring pectate lyase from *Bacillus pumilus* BK2. *Journal of Biotechnology* 121: 390–401.
- Kobayashi T, Sawada K, Sumitomo N, Hatada Y, Hagihara H, Ito S. 2003. Bifunctional pectinolytic enzyme with separate pectate lyase and pectin methylesterase domains from an alkaliphilic *Bacillus*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 19: 269–277.
- Lara-Flores M, Olvera-Novoa MA, Guzmán-Méndez BE, López-Madrid W. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 216: 193–201.
- Li J, Tan B, Mai K. 2009. Dietary probiotic *Bacillus* OJ and isomaltooligosaccharides influence the intestine microbial populations, immune responses and resistance to white spot syndrome virus in shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 291: 35–40.
- Liu CH, Chiu CS, Ho PL, Wang SW. 2009. Improvement in the growth performance of white shrimp *Litopenaeus vannamei* by a protease-producing probiotic *Bacillus subtilis* E20, from natto. *Journal of Applied Microbiology* 107: 1.031–1.041.
- Nikoskelainen S, Ouwehand AC, Bylund G, Salminen S, Lilius EM. 2003. Immune enhancement in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* by potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus*. *Fish and Shellfish Immunology* 15: 443–452.
- Panigrahi A, Azad IS. 2007. Microbial intervention for better fish health in aquaculture: the Indian scenario. *Fish Physiology and Biochemistry* 33: 429–440.
- Pirarat N, Kobayashi T, Katagiri T, Maita M, Endo M. 2006. Protective effects and mechanisms of a probiotic bacterium *Lactobacillus rhamnosus* against experimental *Edwardsiella tarda* infection in tilapia *Oreochromis niloticus*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 113: 339–347.
- Rehman HU, Qader SAU, Aman A. 2012. Polygalacturonase: Production of pectin depolymerising enzyme from *Bacillus licheniformis* KIBGE IB-21. *Carbohydrate polymers* 90: 387–391.
- Rurangwa E, Laranja JL, Van Houdt R, Delaedt Y, Geraylou Z, Van de Wiele T, Ollevier F. 2009. Selected nondigestible carbohydrates and prebiotics support the growth of probiotic fish bacteria mono-cultures in vitro. *Journal of Applied Microbiology* 106: 932–940.
- Selvan RT, Vignesh V, Kanipandian N, Parthiban K, Vasuki B, Nishanthini A. 2011. Probiotic impact of *Lactobacillus* isolates in freshwater fish *Cyprinus Carpio*. *International Journal of Fisheries and Aquaculture* 1: 89–100.
- Soriano M, Diaz P, Pastor FIJ. 2006. Pectate lyase C from *Bacillus subtilis*: a novel endo-cleaving enzyme with activity on highly methylated pectin. *Microbiology* 152: 617–625.
- Tangko, Malik A, Mansyur A, Reski. 2007. Penggunaan probiotik pada pakan pembesaran ikan bandeng dalam keramba jaring apung di laut. Makassar: Universitas Hassanudin.
- Thiessen D, Maenz D. 2005. Dephosphorylated *Canola* (rapeseed) protein concentrate as: A viable vegetable alternative to fishmeal in aquafeed formulations. *International Aquafeed* March-April 8: 21–28.
- Tseng DY, Ho PL, Huang SY, Cheng SC, Shiu

- YL, Chiu CS, Liu CH. 2009. Enhancement of immunity and disease resistance in the white shrimp *Litopenaeus vannamei* by the probiotic *Bacillus subtilis* E20. *Fish & Shellfish Immunology* 26: 339–344.
- Waché Y, Auffray F, Gatesoupe FJ, Zambonino J, Gayet V, Labbé L, Quentel C. 2006. Cross effects of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and rearing conditions on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in rainbow trout *Onchorhynchus mykiss* fry. *Aquaculture* 258: 470–478.
- Wang YB, Li JR, Lin J. 2008. Probiotics in aquaculture: challenges and outlook. *Aquaculture* 281: 1–4.