

Full Paper**ISOLASI, KARAKTERISASI DAN UJI INFEKSI BAKTERI PROTEOLITIK DARI LUMPUR KAWASAN HUTAN BAKAU****ISOLATION, CHARACTERIZATION AND INFECTION TEST OF PROTEOLYTIC BACTERIA ISOLATED FROM MANGROVE SEDIMENTS**Triyanto¹⁾, Alim Isnansetyo¹⁾, Irfan D. Prijambada²⁾, Jaka Widada²⁾ dan Afi Tarmiawati¹⁾Jur. Perikanan, Fak. Pertanian UGM Yogyakarta
Lab. Mikrobiologi Tanah dan Lingkungan, Fak. Pertanian UGM Yogyakarta**Abstract**

This research was aimed to isolate proteolytic bacteria that have high ability to hydrolyze protein. The sources of bacterial samples were collected from mangrove sediment in Indramayu and Cilacap Regency. *Collwell SWYE Modification* Agar medium and *Skim Milk* Agar Medium, which contain pepton and casein, were used for isolating the bacteria. Forty isolates having proteolytic activity were obtained. Three isolates, i.e. Ps.23.1, Ps.27.3 and Ps.23.2, having the highest activity were selected. The selected isolates were able to grow at pH range of 5 to 8. They were also able to grow at NaCl concentration of 0.5-3.5%. Intramuscular injection test on white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) shows that Ps.23.1 and Ps.23.2 were not pathogenic to shrimp. On the other hand, Ps.27.3 was indicated to cause disease on shrimp. These results indicated that isolates Ps.23.1 and Ps.23.2 potentially can be used as inoculant for bioremediation of brackish water pond. Isolate Ps.23.1 was characterized to be an aerobic, nonmotile, short rod, gram negative bacteria having catalase and oxidase activities. It produced yellowish, circular, entire colonies. Isolate Ps.23.2 was characterized to be an aerobic, motile, rod, spore forming, gram positive bacteria having catalase and oxidase activities.

Keywords: Bioremediation, *Litopenaeus vannamei*, Proteolytic bacteria**Pengantar**

Produksi udang Indonesia pada tahun 1998 adalah sebesar 158.500 ton dan mengalami kenaikan menjadi 250.469 ton pada tahun 2003 (Anonim, 2003). Meskipun demikian, usaha budidaya udang di Indonesia menghadapi kendala seperti penurunan mutu perairan (Heru, 2003) akibat akumulasi limbah organik dari budidaya udang itu sendiri (Suastika-Jaya dkk., 1996). Browdy *et al.* (2001) menyatakan pakan udang dengan kadar protein 30-45% akan menyebabkan penurunan kualitas air yang ditandai dengan kadar amonia antara 1,8-4,8 ppm, nitrat antara 6,7-14,2 ppm dan nitrit 1,1-2,6 ppm setelah 2-3 bulan masa budidaya udang. Penurunan mutu perairan menyebabkan timbulnya berbagai wabah penyakit pada udang, baik yang disebabkan bakteri maupun virus. Sumber bahan organik dalam budidaya udang sebagian besar (90%) berasal dari pakan dan sisanya berasal dari *run off* serta air tawar atau laut (Funge-Smith & Briggs, 1998). Pada budidaya udang secara intensif dengan tingkat produksi 20 ton/ha/tahun, akan dibutuhkan pakan sekitar 30 ton/ha/tahun (asumsi FCR 1:1,5). Padahal menurut Burford dkk. (2001) hanya sekitar 22% N dari pakan yang digunakan untuk membentuk tubuh udang dan

sisanya dibuang ke lingkungan dalam bentuk nitrogen organik dan amonium (NH_4^+). Proses penguraian bahan organik di tambak melibatkan multi spesies bakteri (Suastika-Jaya *et al.*, 1996). Bakteri-bakteri tersebut tersusun dari berbagai jenis bakteri, seperti bakteri proteolitik, selulolitik, amilolitik, nitrifikasi dan denitrifikasi.

Limbah organik yang mempunyai kandungan protein tinggi akan terdekomposisi menjadi senyawa yang lebih sederhana oleh bakteri proteolitik. Beberapa bakteri proteolitik telah ditemukan yaitu *Bacillus*, *Pseudomonas* dan *Vibrio* (Tsao, 1984). Secara alamiah, bakteri proteolitik sudah terdapat dalam perairan tambak meskipun dengan kuantitas dan kualitas yang terbatas. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya proses dekomposisi yang lambat, dan tidak efektif. Inokulum bakteri peremediasi yang ada di pasaran sering memberikan hasil yang tidak signifikan (Browdy *et al.*, 2001). Syariff *et al.*, (2001) juga mendapatkan bahwa efektivitas inokulum bakteri peremediasi komersial sangat rendah akibat tidak adanya manipulasi lingkungan pada waktu aplikasi di lapangan. Oleh karenanya diperlukan adanya inokulum bakteri peremediasi, yang didalamnya mengandung bakteri proteolitik, dengan kemampuan

tinggi untuk mengatasi limbah organik di tambak. Dalam penelitian ini akan dicari bakteri proteolitik yang mempunyai aktivitas tinggi sebagai salah satu komponen penyusun inokulum bakteri peremediasi tambak.

Metode Penelitian

Pengambilan Cuplikan

Cuplikan tanah (lumpur) diambil secara acak dari kawasan hutan bakau di Kabupaten Cilacap, Jawa Tengah dan Kabupaten Indramayu, Jawa Barat. Cuplikan diambil dari jeluk 10 cm sebanyak 0,5 kg dan dimasukkan plastik berukuran 2 kg, kemudian dimasukkan dalam kotak pendingin. Setelah sampai di laboratorium, cuplikan disimpan dalam lemari pendingin bersuhu 5°-10°C sampai digunakan.

Isolasi Bakteri

Cuplikan tanah sebanyak 11 g disuspensikan ke dalam 99 ml air destilat steril (Cappuccino & Sherman, 2001). Suspensi tanah diencerkan secara bertingkat, masing-masing seri pengenceran diambil sebanyak 100 µl dan diinokulasikan pada Media *Collwel SWYE Modification* agar dalam larutan Trisalt (Pepton 10 g, NaCl 3 g, KCl 1 g, MgCl₂·6H₂O 0.53 g, MgSO₄·7H₂O 0.70 g dalam 1000 ml air destilat) (Rodina, 1972) dan Media *Skim Milk* agar dalam larutan Trisalt (*Skim Milk* 100 g, NaCl 3 g, KCl 1 g, MgCl₂·6H₂O 0.53 g, dalam 1000 ml air destilat) dengan menggunakan metode sebar ulas (*spread method*) (Irianto, 2005). Koloni bakteri yang tumbuh dan membentuk zona jernih di sekitar koloni, diambil dan dimurnikan dengan metode *Quadrant streak* (Cappuccino & Sherman, 2001). Bakteri yang telah murni disimpan pada media *Nutrient Agar* (NA) sampai digunakan lebih lanjut.

Seleksi Kemampuan Proteolitik

Seleksi kemampuan proteolitik bakteri hasil isolasi dilakukan dengan menumbuhkan sebanyak 2 µl suspensi bakteri dari kultur TSB (*Trypticase Soy Broth*) (setelah lakukan penyetaraan kerapatan optik pada panjang gelombang 540 nm) dalam media *Skim Milk* agar. Kemampuan proteolitik ditandai adanya zona jernih di sekeliling koloni. Nisbah zona jernih terhadap koloni dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Nisbah zona jernih terhadap koloni} = \frac{\text{Luas zona jernih}}{\text{Luas koloni}}$$

Tiga isolat yang mempunyai kemampuan proteolitik tertinggi dipilih untuk pengujian kemampuan

proteolitiknya selama 5 hari. Mula-mula bakteri dibiakkan pada media TSB, disetarakan kerapatan optiknya (\square 540 nm), dan kemudian sebanyak 2 µl diinokulasikan pada media *Skim Milk* agar secara tetesan. Pengamatan zona hidrolisis dan perhitungan kemampuan hidrolisis protein dilakukan selama 5 hari.

Uji Cekaman Terhadap Salinitas dan pH

Sebanyak 100 µl biakan bakteri isolat terpilih berumur 24 jam dalam medium TSB diinokulasikan ke dalam media *water pepton* yang mengandung NaCl dengan konsentrasi 0%; 0,5%; 1%; 1,5%; 2%; 2,5%; 3% dan 3,5%. Sedang untuk mengetahui kemampuan menghadapi cekaman pH, sebanyak 100 µl biakan bakteri yang sama diinokulasikan ke dalam media *water pepton* yang masing-masing mempunyai pH 5, 6, 7, 8 dan 9. Bakteri kemudian dibiakkan pada suhu 30°C selama 24 jam dan pertumbuhannya diamati secara visual.

Uji Infeksi

Terhadap tiga isolat terpilih juga dilakukan uji infeksi terhadap udang vanamei (*Litopenaeus vanamei*). Pengujian dilakukan di Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo. Isolat bakteri terpilih ditumbuhkan pada media TSB *trisalt* yang diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Kepadatan bakteri diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm dan kurva standar yang telah tersedia. Infeksi pada udang dilakukan secara suntikan intramuskular pada segmen ke 3 dari ekor dengan kepadatan 10⁴ CFU/udang. Pengamatan perkembangan gejala penyakit dan mortalitas udang dilakukan secara periodik setiap 6 jam sekali selama 10 hari. Selanjutnya Rerata Waktu Kematian (RWK) dan *Survival Rate* dihitung berdasarkan rumus berikut ini.

$$\text{Rerata Waktu Kematian (RWK)} = \frac{\sum ai bi}{\sum bi}$$

$$\text{Survival Rate (SR)} = \frac{\sum St}{\sum So} \times 100\%$$

Keterangan :

ai : Waktu kematian pada jam ke-i (jam)

bi : Jumlah udang uji yang mati pada jam ke-i (ekor)

St : Jumlah udang yang hidup akhir pengamatan (ekor)

So : Jumlah udang awal pengamatan (ekor)

Pengujian lebih lanjut dilakukan terhadap isolat-isolat yang tidak bersifat patogen terhadap udang.

Uji Sinergisme

Uji sinergisme antar isolat terpilih dilakukan pada media *Skim Milk Agar Trisalt* dengan sumuran berdiameter 5 mm. Masing-masing isolat yang diuji dibiakkan pada media TSB Trisalt dan kemudian disetarakan kerapatan optiknya. Suspensi bakteri (2 µl) dari masing-masing isolat dimasukkan ke dalam sumuran. Suspensi bakteri dari isolat tunggal digunakan sebagai pembanding (kontrol). Biakan dalam media *Skim Milk Agar Trisalt* kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Luas zona jernih yang dihasilkan diukur dan dibandingkan dengan kontrol. Biakan campuran isolat yang menghasilkan zona jernih yang lebih luas daripada kontrol ditetapkan memiliki sifat sinergis, sedangkan jika sebaliknya ditetapkan sebagai sifat antagonis.

Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan terhadap isolat terpilih. Identifikasi tersebut meliputi pengamatan morfologi koloni, morfologi sel, pengecatan Gram, pengecatan spora, motilitas dan pengamatan biokimia yang terdiri dari uji katalase, oksidase, dan pemanfaatan glukosa.

Hasil dan Pembahasan

Isolasi bakteri

Bakteri proteolitik yang berhasil diisolasi dari masing-masing titik pengambilan cuplikan berkisar antara 4-8 isolat dengan jumlah total yang diperoleh adalah 40 isolat, 30 isolat diperoleh dari Cilacap dan 10 isolat diperoleh dari Indramayu. Pengambilan cuplikan dari kawasan hutan bakau mempunyai beberapa pertimbangan, yakni bahwa bakteri-bakteri di kawasan tersebut mampu menguraikan daun-daun mangrove (bakau) yang juga mengandung protein menjadi senyawa-senyawa sederhana (Feliatra,

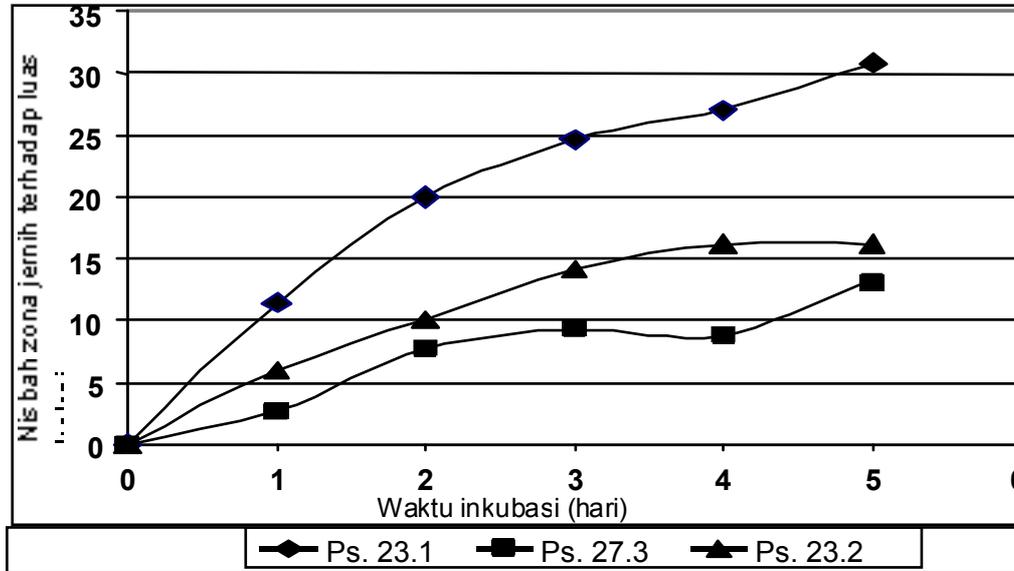
2001). Karakteristik hutan bakau Cilacap dapat dibagi menjadi tiga kawasan, yaitu hutan bakau, tambak dan sungai. Kawasan hutan bakau merupakan wilayah yang dirajai oleh vegetasi hutan bakau. Kawasan tambak juga memiliki vegetasi hutan bakau, tetapi populasinya tidak merajai. Kawasan sungai merupakan wilayah dekat muara yang memiliki vegetasi mangrove (bakau) di pinggirnya. Sedangkan karakteristik hutan bakau di Indramayu terbagi menjadi dua berdasarkan jenis bakau yang merajai, yaitu kawasan *Rhizopora* dan kawasan *Avicennia*. Kondisi cuplikan tanah yang diambil berbeda-beda tergantung dari kondisi lingkungan di sekitarnya. Cuplikan tanah yang diambil berwarna coklat muda sampai dengan hitam. Warna tanah yang hitam menunjukkan kadar hidrogen sulfida yang tinggi. Indikator ini menunjukkan adanya beberapa jenis bakteri proteolitik, seperti *Proteus*, yang dapat membentuk hidrogen sulfida (Muchtadi & Betty, 1983).

Seleksi Bakteri Proteolitik

Kemampuan menghidrolisis protein isolat bakteri yang diperoleh bervariasi, dengan nisbah zona jernih terhadap luas koloni berkisar antara 2,25 - 22,73 (Tabel 1). Zona jernih yang terbentuk merupakan hasil dari proses hidrolisis protein (kasein), yang merupakan suspensi koloid berwarna putih "opaque", menjadi senyawa turunan yang lebih mudah larut dan bersifat transparan (Muchtadi & Betty, 1983). Dari semua isolat yang diperoleh, 13 isolat yang mempunyai kemampuan hidrolisis protein tertinggi (nisbah zona jernih terhadap luas koloni antara 9,33-22,73) berasal dari Cilacap. Semua isolat dengan kemampuan hidrolisis protein tertinggi diperoleh dari cuplikan yang diambil dari lokasi yang berdekatan dengan pemukiman penduduk, tambak dan sungai. Lokasi ini memungkinkan banyaknya bahan organik, terutama senyawa protein dari sisa pakan udang,

Tabel 1. Aktivitas hidrolisis protein bakteri hasil isolasi dari kawasan mangrove

No.	Kode Bakteri	Asal isolat	Nisbah luas zona jernih terhadap luas koloni
1	Ps. 23.1	Cilacap	22,73
2	Ps. 27.3	Cilacap	18,12
3	Ps. 23.2	Cilacap	16,00
4	Ps. 19.3.1	Cilacap	12,97
5	Pp. 19.6	Cilacap	12,60
6	Pp. 21.1	Cilacap	12,27
7	Ps. 19.3.2	Cilacap	12,12
8	Ps. 21.3.3	Cilacap	11,56
9	Pp. 21.3	Cilacap	11,00
10	31 isolat	Cilacap dan Indramayu	< 10,62



Gambar 1. Aktivitas proteolitik isolat bakteri terpilih selama masa inkubasi

bangkai udang, ikan maupun kepiting, yang dapat menjadi faktor seleksi alam bagi bakteri yang ada. Berdasarkan tingkat kemampuan menghidrolisis protein yang dimiliki oleh masing-masing isolat, dipilih tiga isolat dengan kemampuan tertinggi untuk diuji lebih lanjut. Ketiga isolat terpilih tersebut adalah isolat Ps. 23.1, isolat Ps. 27.3 dan isolat Ps. 23.2.

Uji Aktivitas Proteolitik

Gambar 1 menunjukkan aktivitas isolat bakteri proteolitik terpilih selama 5 hari pengujian. Ketiga isolat terpilih belum menunjukkan penurunan aktivitas hidrolisis protein selama 5 hari pengujian. Isolat Ps.23.1 tampak mempunyai aktivitas paling tinggi dibandingkan dengan dua isolat lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa isolat tersebut mampu memproduksi enzim protease ekstra seluler yang paling kuat.

Uji pertumbuhan pada berbagai pH dan kandungan NaCl

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat terpilih dalam menghadapi cekaman lingkungan yang berupa keasaman dan kandungan garam. Pengujian keasaman dilakukan dengan kisaran pH yang merupakan pH perairan. Hasil pengamatan pengujian ini ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan bahwa semua isolat terpilih mempunyai kemampuan untuk hidup pada berbagai pH, baik asam, netral maupun basa. Akan tetapi, isolat Ps.23.2 tidak dapat tumbuh pada pH 9. Dari hasil pengamatan tersebut dapat disimpulkan bahwa isolat Ps. 23.1 dan Ps. 27.3 dapat digunakan di tambak udang yang mempunyai kisaran antara 6,5-9 (Boyd, 1982).

Tabel 2. Pertumbuhan isolat pada berbagai pH.

No.	Isolat	Derajat Keasaman (pH)				
		5	6	7	8	9
1.	Ps.23.1	+	+	+	+	+
2.	Ps.27.3	+	+	+	+	+
3.	Ps.23.2	+	+	+	+	-

Pengujian ketahanan terhadap kandungan garam dilakukan dengan kisaran kadar NaCl berkisar antara 0,5%-3,5% (Tabel 3). Kadar NaCl tersebut merupakan kisaran kegaraman perairan tawar, payau dan asin.

Tabel 3. Pertumbuhan isolat pada berbagai kadar kegaraman.

No.	Isolat	Konsentrasi NaCl (%)						
		0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5
1.	Ps. 23.1	+	+	+	+	+	+	+
2.	Ps. 27.3	+	+	+	+	+	+	+
3.	Ps. 23.2	+	+	+	+	+	+	+

Tabel 3 menunjukkan bahwa ketiga isolat terpilih mampu hidup pada berbagai kadar NaCl dalam kisaran 0,5%-3,5%. Hal ini menunjukkan bahwa isolat ini mampu digunakan di semua perairan, baik perairan tawar yang memiliki salinitas 0% sampai dengan perairan asin yang memiliki salinitas 3,5%. Kemampuan ketiga isolat terpilih untuk hidup pada berbagai kadar NaCl diduga terkait dengan asal usul ketiga isolat yakni daerah estuarina yang sering mengalami perubahan kadar garam dari tawar, payau dan menjadi asin. Hal tersebut terjadi karena banyaknya muara sungai yang

mengalir dan adanya curah hujan yang tinggi sepanjang tahun. Organisme yang hidup di daerah estuarina adalah organisme yang tahan terhadap perubahan kegaraman yang besar (*euryalin*) (Hutabarat, 2000). Menurut Feliatra (2001), bakteri yang ditemukan di kawasan hutan bakau dapat hidup pada salinitas 0%-3%. Kemampuan ketiga isolat terpilih untuk hidup pada berbagai kadar NaCl menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut mempunyai kemampuan untuk dapat digunakan sebagai agensia peremediasi biologis pada semua perairan.

Uji patogenisitas pada udang

Syarat suatu isolat bakteri untuk dapat digunakan sebagai agensia bioremediasi adalah isolat bakteri tersebut tidak mempunyai potensi sebagai patogen (Gomez-Gil & Roque, 1998). Pengujian patogenisitas dilakukan pada udang vannamei (*Lithopenaeus vannamei*) dengan injeksi secara intra muskular pada kerapatan bakteri 10⁴ CFU/udang. Gejala eksternal yang dapat diamati pada udang sakit adalah aktivitas makan dan bergerak serta terjadinya *molting* yang menurun. Pada udang yang sakit pada karapasnya terdapat kerak berwarna lebih hitam jika dibandingkan dengan udang yang sehat.

Tabel 4. menunjukkan bahwa sintasan pada akhir pengamatan adalah bekisar antara 73,33-100% (dengan tingkat mortalitas berkisar antara 0-26,67%). Berdasarkan hasil pengujian tersebut, dapat disimpulkan bahwa isolat Ps. 23.1 dan isolat Ps. 23.2 tidak bersifat patogen sedangkan isolat Ps.

Tabel 4. Kematian udang dalam jangka waktu 10 hari pada uji patogenisitas isolat terpilih

No.	Isolat	Ulangan	Mortalitas (ekor)	Sintasan (%)	RWK (jam)
1.	Ps. 23.1	1	0/5	100	6
		2	1/5	90	
		3	0/5	100	
	Rata-rata			93,33	
2.	Ps. 27.3	1	1/5	90	28
		2	2/5	60	
		3	1/5	90	
	Rata-rata			73,33	
3.	Ps. 23.2	1	0/5	100	0
		2	0/5	100	
		3	0/5	100	
	Rata-rata			100,00	
4	Kontrol	1	0/5	100	0
		2	0/5	100	
		3	0/5	100	
	Rata-rata			100,00	

27.3 bersifat patogen pada udang Vannamei. Hal ini menunjukkan bahwa isolat Ps. 23.1 dan isolat Ps. 23.2 dapat digunakan sebagai kandidat bioremediator di tambak. Terhadap isolat Ps. 23.1 dan Ps. 23.2 dilakukan uji selanjutnya. Irianto (2003) menyebutkan bahwa pada uji tantangan bakteri *Bacillus* sp. terhadap larva udang tidak menimbulkan gejala penyakit.

Uji sinergisme

Pengujian ini dilakukan untuk mencari kombinasi isolat yang dapat digunakan bersama-sama atau sinergis dalam proses remediasi. Kombinasi isolat disebut sinergistik bila ketika ditumbuhkan pada media yang sama diperoleh aktivitas yang semakin tinggi. Apabila ketika ditumbuhkan pada media yang sama diperoleh aktivitas yang semakin rendah, kombinasi isolat tersebut disebut sebagai antagonistik. Tabel 5 menunjukkan bahwa penggunaan isolat Ps. 23.1 dan Ps. 23.2 secara bersama-sama menghasilkan kemampuan yang lebih tinggi daripada penggunaan masing-masing isolat dalam menghidrolisis protein. Hal ini menunjukkan adanya sinergisme dari isolat-isolat tersebut dalam menghidrolisis protein. Menurut Salle (1954), banyak dari spesies bakteri yang tumbuh saling berasosiasi di dalam tanah saling ketergantungan makanan dan kemampuan.

Table 5. Pengujian sinergisme isolat terpilih

No.	Isolat	Nisbah luas zona jernih terhadap luas koloni
1.	Ps. 23.1	14,06
3.	Ps. 23.2	16,00
5.	Ps. 23.1 & Ps. 23.2	18,06

Karakterisasi dan Identifikasi

Karakterisasi kemudian dilakukan terhadap isolat Ps. 23.1 dan isolat Ps. 23.2. Hasil pengujian tersebut menunjukkan bahwa isolat Ps. 23.1 membentuk koloni berwarna kuning mengkilat berbentuk *circulair*, dengan tepi *entire*. Isolat Ps. 23.1 merupakan bakteri aerob berbentuk batang pendek yang dapat hidup soliter maupun berkelompok dengan sifat pengecatan Gram negatif. Isolat ini merupakan bakteri motil yang memiliki aktivitas katalase dan oksidase dengan kemampuan memanfaatkan glukosa.

Isolat Ps. 23.2 merupakan bakteri yang membentuk koloni berwarna putih, *circulair*, dengan tepi *entire*. Bakteri ini berbentuk batang, bersifat motil, mampu membentuk endospora, dan memiliki sifat pengecatan Gram positif. Bakteri ini memiliki aktivitas katalase dan oksidase.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

1. Dua isolat bakteri proteolitik (Ps. 23.1 dan Ps. 23.2) tidak bersifat patogen terhadap udang Vanamei (isolat dari Kabupaten Cilacap) potensial sebagai kandidat bakteri bioremediasi.
2. Kedua isolat (Ps. 23.1 dan Ps. 23.2) mampu hidup pada medium yang mengandung garam (NaCl) 0-3,5%, pH 5-9 dan kedua isolat bersifat sinergis dalam menghidrolisis protein.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian optimalisasi lingkungan untuk melihat kemampuan bakteri proteolitik tersebut sebagai agen bioremediasi.
2. Perlu dilakukan penelitian lapangan untuk melihat kemampuan bakteri proteolitik tersebut sebelum diaplikasikan pada budidaya udang ditambak sebagai agen bioremediasi.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih Penulis sampaikan kepada Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang telah membiayai penelitian ini dengan SK No. UGM/2323b/P/II/Set.R/2004 tanggal 1 Mei 2004

Daftar Pustaka

- Anonim, 2003. Pedoman Investasi Komoditas Udang di Indonesia. Direktorat Jendral Peningkatan Kapasitas Kelembagaan dan Pemasaran. Departemen kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- Boyd, C. E., 1982. Water Quality Management for Pond Fish Culture. Elsevier Science. New York.
- Browdy, C.L., D. Bratvold, A.D. Stokes & R.P. McIntosh, 2001. Perspectives on the application of closed shrimp culture system. P. 20-34. In: C.L. Browdy & J.E. Jory (Eds). The new wave, Proceeding of the special session on sustainable shrimp culture. Aquaculture 2001, The WAS, Louisiana.
- Cappuccino, J. G. & N. Sherman, 2001. Microbiology A Laboratory Manual. 6th ed. Rockland Community College, New York.
- Feliatra, 2001. Isolasi dan identifikasi bakteri heterotrof yang terdapat pada daun mangrove

(*Avicenna* sp. dan *Sonneratia* sp.) dari Kawasan Stasiun Kelautan Dumai. Jurnal Natur Indonesia, 3(2):104-112.

- Funge-Smith, A.J. & M.R.P. Briggs, 1998. Nutrient budgets in intensive shrimp pond: Implication on sustainability. Aquaculture, 164: 117-133
- Gomes-Gil, B. & A. Roque, 1998. Selection of Probiotic Bacteria for Use in Aquaculture (Abstract). Proceedings to the Special Sessional Shrimp Biotechnology. 5th Asian Fisheries Forum. Chiangmai, Thailand 11-14 November 1998.
- Heru, T. P., 2003. Peranan bioremediasi dan probiotik dalam meningkatkan kualitas perairan lingkungan perikanan budidaya. Warta Penelitian Perikanan Indonesia, 9(2): 19-24
- Hutabarat, S., 2000. Produktivitas Perairan dan Plakton Telaah terhadap Ilmu Perikanan dan Kelautan. Badan Penerbit Universitas Diponegoro. Semarang.
- Irianto, A., 2003. Probiotik Akuakultur. Cetakan Pertama. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Muchtadi, D. & S. L. Betty, 1983. Petunjuk Praktek Mikrobiologi Hasil Pertanian 2. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Jakarta.
- Rodina, A.G., 1972. Methods in Aquatic Microbiology (Translated by R.R. Colwell & M.S. Zambruski). University Park Pers. Baltimore.
- Salle, A. J., 1954. Fundamental Principles of Bacteriology. 4th Edition. Mc. Graw Hill Book. New York
- Shariff, M., F.M. Yusoff, T.N. Devaraja & P.S.S. Rao, 2001. The effectiveness of a commercial microbial product in poorly prepared tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius), ponds. Aquaculture Research, 32: 181-187
- Suastika-Jaya, I.B.M., A. Taslihan & N.H. Abidin, 1996. Penerapan Teknik Produksi dan Preservasi Bakteri Remediasi. Techner 27:12-14.
- Tsao, G.T., 1984. Bacterial hydrolysis: A review. P.83-99. In: G.L. Ferrero, M.P. Ferranti & H. Naveau (eds.) Anaerobic digestion and carbohydrate hydrolysis of waste. Elsevier Applied Science Pub. London