

Uji Sensitivitas Bakteri Probiotik Terhadap *Vibrio harveyi* Penyebab Vibriosis Secara *In Vitro*

Zaraswati Dwyana^{1*}, Murniati¹

¹Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
E-mail: zaraswatidwyana@gmail.com

Abstract

The purpose of this study was to determine the sensitivity of probiotic bacteria *Bacillus sp*, *Photobacterium sp* and *Lactobacillus sp* and combination of them for inhibiting the growth of *V. harveyi*. Sensitivity is known by measuring the diameter of the barrier formed by probiotic bacteria against *V. harveyi* using agar diffusion method on the Mueller Hinton Agar (MHA) medium with an incubation period of 24 hours at 30°C. A seven treatment of a combination of probiotic bacteria was used. The study was arranged in a Completely Randomized Design (CRD) in 3 replications. The observational data were analyzed by analysis of variance then continued with Duncan's Real Distance Test. The results showed that the treatment for the combination of *Bacillus sp* with *Lactobacillus sp* was the best for inhibiting the growth of *V.harveyi* causing vibriosis.

Keywords: in vitro, probiotic bacteria, Vibrio harveyi

PENDAHULUAN

Penurunan produksi udang windu (*Peneus monodon*) diketahui penyebabnya adalah serangan penyakit bakterial baik pada panti pembenihan maupun pada usaha pertambakan. Salah satu penyakit yang paling umum menyerang larva udang dan seringkali menyebabkan kematian massal yaitu Vibriosis yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio sp* terutama spesies *Vibrio harveyi* yang telah terbukti menyebabkan kerugian besar (Moriarty,1999)

Penanganan penyakit akibat infeksi bakteri pada umumnya bertumpu pada penggunaan antibiotik. Namun adanya pelarangan pemakaian antibiotik, karena dapat menyebabkan resistensi pada bakteri target dan efek samping pada udang peliharaan, sehingga cara ini menjadi tidak efisien bila dilakukan pada penanggulangan penyakit vibriosis. Alternatif lain untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada budidaya udang adalah penggunaan bakteri probiotik dalam akuakultur. (Rengpipat *et al.*, 2000; Moriarty, 2001).

Penebaran probiotik pada tambak udang bertujuan untuk mengeliminasi atau mengurangi kehadiran bakteri patogen pada air dan sedimen, serta memperbaiki kualitas air tambak melalui degradasi bahan organik. Pada akhirnya harapan penggunaan bakteri probiotik ini akan mampu menaikkan tingkat kelangsungan hidup dan mempercepat pertumbuhan ikan dan udang. Permasalahannya hingga kini belum diketahui kemampuan masing-masing bakteri probiotik dalam menghambat/membunuh bakteri patogen terutama bakteri probiotik *Bacillus sp*, *Photobacterium sp* dan *Lactobacillus sp*.(Gibson, *et al.*, 1997).

METODE PENELITIAN

Bahan

Medium Mueller Hinton Agar (MERCK), medium Thiosulfat Citrate Bile Salt Sucrose (MERCK), pepton 1% (oxid), medium De Man Rogosa Sharpe (MERCK), medium Zobell's 2216E, medium spesifik *Photobacterium* sp, trisalt (NaCl, KCl, MgSO₄), biakan murni *Vibrio harveyi*, biakan murni bakteri probiotik (*Bacillus* sp, *Photobacterium* sp dan *Lactobacillus* sp), paper disk steril (kertas cakram).

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Biakan murni *V. harveyi* hasil peremajaan ditumbuhkan dalam pepton cair 1% pada suhu 30° C selama 1x24 jam. Selanjutnya dilakukan pengenceran suspensi bakteri sampai diperoleh transmittan 25% terhadap blanko pepton cair 1% pada panjang gelombang 580 nm dengan menggunakan kuvet berdiameter 13 mm.

Pembuatan Suspensi Bakteri Probiotik

Masing-masing bakteri probiotik (*Bacillus* sp, *Photobacterium* sp, dan *Lactobacillus* sp) yang telah diremajakan, ditumbuhkan dalam pepton cair 1% pada suhu 30° C selama 1x24 jam. Selanjutnya dilakukan pengenceran suspensi bakteri sampai diperoleh transmittan 25% terhadap blanko pepton cair 1% pada panjang gelombang 580 nm dengan menggunakan kuvet berdiameter 13 mm.

Pengujian Sensitivitas

Pengujian sensitivitas dilakukan dengan metode difusi menggunakan kertas saring berdiameter 5.5 mm.

- *Bacillus* sp terhadap *V.harveyi*

Medium Mueller Hinton Agar steril dengan suhu 40° C dituang secara aseptik ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml, dibiarkan memadat. Setelah memadat diteteskan suspensi *V. harveyi* sebanyak 1 ml lalu diratakan dengan menggunakan “stick hockey”. Selanjutnya 3 kertas cakram yang telah direndam dalam suspensi *Bacillus* sp dan 1 kertas cakram yang telah direndam dalam larutan kontrol negatif (akuades steril) selama 15 menit diletakkan di atas permukaan medium. Kemudian diinkubasi pada suhu 30° C selama 1x24 jam.

- *Photobacterium* sp terhadap *V. harveyi*

Medium Mueller Hinton Agar steril dengan suhu 40° C dituang secara aseptik ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml, dibiarkan memadat. Setelah memadat diteteskan suspensi *V. harveyi* sebanyak 1 ml lalu diratakan dengan menggunakan “stick hockey”. Selanjutnya 3 kertas cakram yang telah direndam dalam suspensi *Photobacterium* sp dan 1 kertas cakram yang telah direndam dalam larutan kontrol negatif (akuades steril) selama 15 menit diletakkan di atas permukaan medium. Kemudian diinkubasi pada suhu 30° C selama 1x24 jam.

- *Lactobacillus* sp terhadap *V. harveyi*

Medium Mueller Hinton Agar steril dengan suhu 40° C dituang secara aseptik ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml, dibiarkan memadat. Setelah memadat diteteskan suspensi *V. harveyi* sebanyak 1 ml lalu diratakan dengan menggunakan “stick hockey”. Selanjutnya 3 kertas cakram yang telah direndam dalam suspensi *Lactobacillus* sp dan 1 kertas cakram yang telah direndam dalam larutan kontrol negatif (akuades steril) selama 15 menit diletakkan di atas permukaan medium. Kemudian diinkubasi pada suhu 30° C selama 1x24 jam.

- *Bacillus* sp + *Photobacterium* sp terhadap *V. harveyi*

Medium Mueller Hinton Agar steril dengan suhu 40° C dituang secara aseptik ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml, dibiarkan memadat. Setelah memadat diteteskan suspensi *V. harveyi* sebanyak 1 ml lalu diratakan dengan menggunakan “stick hockey”. Selanjutnya 3 kertas cakram yang telah direndam dalam suspensi *Bacillus* sp + *Photobacterium* sp dengan perbandingan 1 : 1 dan 1 kertas

cakram yang telah direndam dalam larutan kontrol negatif (akuades steril) selama 15 menit diletakkan di atas permukaan medium. Kemudian diinkubasi pada suhu 30⁰ C selama 1x24 jam.

- *Bacillus* sp + *Lactobacillus* sp terhadap *V. harveyi*

Medium Mueller Hinton Agar steril dengan suhu 40⁰ C dituang secara aseptik ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml, dibiarkan memadat. Setelah memadat diteteskan suspensi *V. harveyi* sebanyak 1 ml lalu diratakan dengan menggunakan “stick hockey”. Selanjutnya 3 kertas cakram yang telah direndam dalam suspensi *Bacillus* sp + *Lactobacillus* sp dengan perbandingan 1 : 1 dan 1 kertas cakram yang telah direndam dalam larutan kontrol negatif (akuades steril) selama 15 menit diletakkan di atas permukaan medium. Kemudian diinkubasi pada suhu 30⁰ C selama 1x24 jam.

- *Photobacterium* sp + *Lactobacillus* sp terhadap *V. harveyi*

Medium Mueller Hinton Agar steril dengan suhu 40⁰ C dituang secara aseptik ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml, dibiarkan memadat. Setelah memadat diteteskan suspensi *V. harveyi* sebanyak 1 ml lalu diratakan dengan menggunakan “stick hockey”. Selanjutnya 3 kertas cakram yang telah direndam dalam suspensi *Photobacterium* sp + *Lactobacillus* sp dengan perbandingan 1 : 1 dan 1 kertas cakram yang telah direndam dalam larutan kontrol negatif (akuades steril) selama 15 menit diletakkan di atas permukaan medium. Kemudian diinkubasi pada suhu 30⁰ C selama 1x24 jam.

- *Bacillus* sp + *Photobacterium* sp + *Lactobacillus* sp terhadap *V. harveyi*

Medium Mueller Hinton Agar steril dengan suhu 40⁰ C dituang secara aseptik ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml, dibiarkan memadat. Setelah memadat diteteskan suspensi *V. harveyi* sebanyak 1 ml lalu diratakan dengan menggunakan stick hockey. Selanjutnya 3 kertas cakram yang telah direndam dalam suspensi *Bacillus* sp + *Photobacterium* sp + *Lactobacillus* sp dengan perbandingan 1 : 1 : 1 dan 1 kertas cakram yang telah direndam dalam larutan kontrol negatif (akuades steril) selama 15 menit diletakkan di atas permukaan medium. Kemudian diinkubasi pada suhu 30⁰C selama 1x24 jam.

Pengamatan

Setelah diinkubasi selama 1x24 jam dilakukan pengamatan dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terbentuk pada zona masing-masing perlakuan dengan menggunakan jangka sorong 0.1 mm. Inkubasi dilanjutkan untuk pengamatan 48 jam dan diukur daerah hambatannya.

Rancangan Percobaan

Dalam penelitian pengujian sensitivitas bakteri probiotik terhadap *Vibrio harvey* digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pengacakan dilakukan dengan cara pengundian. Terdapat 7 perlakuan dan masing-masing perlakuan dikerjakan 3 kali pengulangan jadi terdapat 21 wadah percobaan.

Uji Statistik

Selanjutnya data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis sidik ragam dan akan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan.

HASIL

Hasil Pengukuran Diameter Daerah Hambatan

Hasil pengukuran diameter daerah hambatan bakteri probiotik terhadap *Vibrio harveyi* penyebab vibriosis dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter daerah hambatan bakteri probiotik terhadap *Vibrio harveyi* penyebab vibriosis pada masa inkubasi 24 jam

Perlakuan	Diameter Daerah Hambatan (mm)			Kontrol (-)
	1	2	3	
A	8,05	7,6	6,3	0
B	6,6	6,05	6,2	0
C	6,55	6,6	8,45	0
AB	7,45	7,8	7,7	0
AC	8,45	12,4	8,7	0
BC	8,05	7,65	8,7	0
ABC	6,9	6,85	7,55	0
Rata-rata	7,43	7,85	7,66	0

Keterangan :

A : *Bacillus* sp terhadap *V. harveyi*

B : *Photobacterium* sp terhadap *V. harveyi*

C : *LactoBacillus* sp terhadap *V. harveyi*

AB : *Bacillus* sp + *Photobacterium* sp terhadap *V. harveyi*

AC : *Bacillus* sp + *LactoBacillus* sp terhadap *V. harveyi*

BC : *Photobacterium* sp + *LactoBacillus* sp terhadap *V. harveyi*

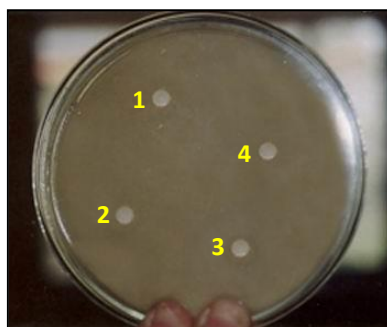
ABC : *Bacillus* sp + *Photobacterium* sp + *LactoBacillus* sp terhadap *V. Harveyi*

Kontrol (-) : Akuades steril

Bakteri probiotik (*Bacillus* sp, *Photobacterium* sp dan *LactoBacillus* sp) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* pada masa inkubasi 24 jam dengan suhu 30⁰ C. Hal ini ditandai dengan terbentuknya daerah bening di sekitar kertas cakram.

Hasil Pengujian Bakteri Probiotik Terhadap *V. Harveyi*

Uji *bacillus* sp terhadap *V. harveyi* dengan masa inkubasi 24 jam pada suhu 30⁰ C



Gambar 1. Diameter Daerah Hambatan *Bacillus* sp Terhadap *V. harveyi*

Areal daya hambat ini terbentuk karena adanya senyawa bioaktif yang terkandung pada mikroba seperti *Bacillus* sp yang memproduksi eksoenzim yang berfungsi menguraikan bahan organik dan juga mengekskresikan enzim hidrolitik, protease, lipase, amilase, dan selulosa sehingga mampu menghidrolisis polisakarida sebagai sumber karbon dan donor elektron menurut Peter *et al.* (1986). Setelah masa inkubasi dilanjutkan sampai 48 jam, daerah bening *Bacillus* sp tetap bening yang menandakan bahwa bakteri ini dapat membunuh (bakterisidal) *V. harveyi*.

Uji *photobacterium* sp terhadap *V. harveyi* dengan masa inkubasi 24 jam pada suhu 30⁰C

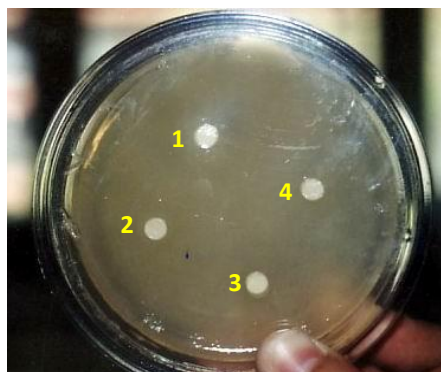
Gambar 2 menunjukkan terjadinya penghambatan pertumbuhan dari *Photobacterium* sp terhadap *V. harveyi* yang ditandai dengan terbentuknya daerah bening di sekitar kertas cakram. Menurut Peter *et al.* (1986) bahwa bakteri ini mampu mendapatkan sumber energi dengan mereduksi NO₃ menjadi NO₂. Setelah masa inkubasi dilanjutkan sampai 48 jam, daerah bening *Photobacterium* sp menjadi sedikit keruh yang menandakan bahwa bakteri ini hanya mampu menghambat (bakteriostatik) *V. harveyi*.



Gambar 2. Diameter Daerah Hambatan *Photobacterium* sp terhadap *V. harveyi*

Uji *LactoBacillus* sp Terhadap *V. harveyi* Dengan Masa Inkubasi 24 Jam Pada Suhu 30⁰ C

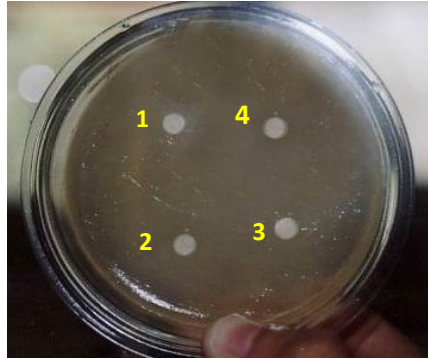
Gambar 3 terbentuk daerah bening yang menandakan bahwa terjadi penghambatan pertumbuhan dari *Lactobacillus* sp terhadap *V. harveyi*. *LactoBacillus* sp merupakan bakteri asam laktat, dimana asam yang dihasilkan dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen (*V. harveyi*) di dalam usus. Selain asam yang dihasilkan, genus bakteri asam laktat ini juga memiliki kemampuan dalam menghasilkan antibiotik alami, seperti *LactoBacillus asidofilus* yang memproduksi asidofilin, *Lactobacillus bifidus* menghasilkan bifidin, dan *LactoBacillus bulgaricus* menghasilkan bulgarican. Setelah masa inkubasi dilanjutkan sampai 48 jam, daerah bening *Bacillus* sp tetap bening yang menandakan bahwa senyawa bioaktif dari bakteri ini dapat membunuh (bakterisidal) *V. harveyi*.



Gambar 3. Diameter Daerah Hambatan *LactoBacillus* sp Terhadap *V. harveyi*

Uji *Bacillus* sp + *Photobacterium* sp Terhadap *V. harveyi* Dengan Masa Inkubasi 24 Jam Pada Suhu 30⁰ C

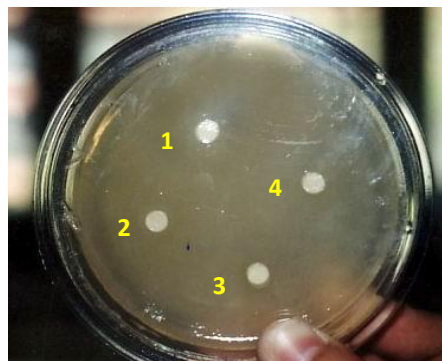
Kombinasi antara *Bacillus* sp + *Photobacterium* sp dapat membentuk areal hambat. Setelah masa inkubasi dilanjutkan sampai 48 jam, daerah bening menjadi sedikit keruh yang menandakan bahwa kombinasi antara kedua bakteri ini hanya mampu menghambat (bakteriostatik) *V. harveyi*



Gambar 4. Diameter Daerah Hambatan *Bacillus* sp + *Photobacterium* sp Terhadap *V. harveyi*

Uji *Bacillus* sp + *Lactobacillus* sp Terhadap *V. harveyi* Dengan Masa Inkubasi 24 Jam Pada Suhu 30⁰ C

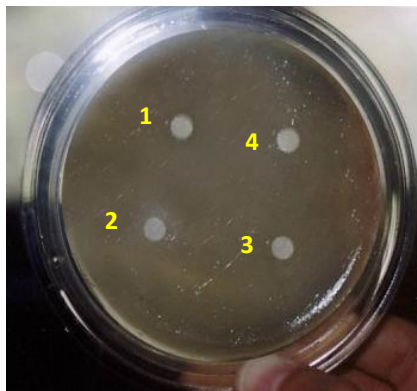
Kombinasi antara *Bacillus* sp + *Lactobacillus* sp untuk menghambat *V. harveyi* menghasilkan daerah bening yang terbesar diantara semua perlakuan. Daerah bening yang dihasilkan tetap bening setelah diinkubasi lanjut sampai 48 jam, yang berarti bahwa kombinasi dari kedua bakteri ini mampu membunuh (bakterisidal) *V. harveyi*.



Gambar 5. Diameter Daerah Hambatan *Bacillus* sp + *Lactobacillus* sp terhadap *V. harveyi*

Uji *Photobacterium* sp + *Lactobacillus* sp Terhadap *V. harveyi* Dengan Masa Inkubasi 24 Jam Pada Suhu 30⁰ C

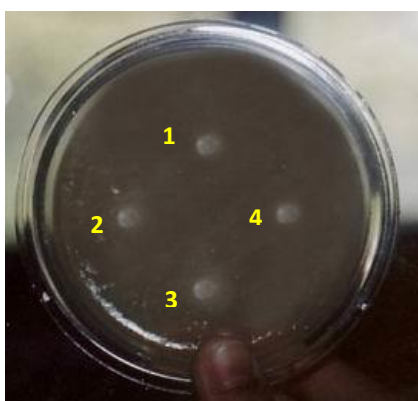
Kombinasi antara *Photobacterium* sp + *Lactobacillus* sp menghasilkan daerah bening yang setelah diinkubasi lanjut sampai 48 jam, daerah bening menjadi sedikit keruh yang menandakan bahwa kombinasi antara kedua bakteri ini hanya mampu menghambat (bakteriostatik) *V. harveyi*.



Gambar 6. Diameter Daerah Hambatan *Photobacterium* sp + *LactoBacillus* sp Terhadap *V. harveyi*

Uji *Bacillus* sp + *Photobacterium* sp + *Lactobacillus* sp Terhadap *V. harveyi* Dengan Masa Inkubasi 24 Jam Pada Suhu 30⁰ C

Kombinasi antara *Bacillus* sp + *Photobacterium* sp + *Lactobacillus* sp menghasilkan daerah bening yang tetap berwarna bening setelah diinkubasi lanjut sampai 48 jam yang menandakan bahwa kombinasi dari ketiga bakteri probiotik ini mampu membunuh (bakterisidal) *V. harveyi*.



Gambar 7. Diameter Daerah Hambatan *Bacillus* sp + *Photobacterium* sp + *Lactobacillus* sp Terhadap *V. harveyi*

Menurut Fooks dan Gibson (2002), bahwa penggunaan kultur campuran (kombinasi bakteri-bakteri probiotik) untuk menekan bakteri patogen terbukti lebih baik dari penggunaan kultur tunggal. Irianto (2002) menyatakan banyak senyawa-senyawa kimiawi yang berasal dari mikroba memiliki aktivitas imunostimulan pada udang, misalnya lipopolisakarida, peptidoglikan dan glukukan. Penggunaan probiotik sebagai suplemen udang juga menunjukkan aktivitas lisozim.

Hasil uji F menunjukkan nilai F hitung lebih besar dari nol dari F tabel pada taraf uji 5 % dan lebih kecil dari nilai F tabel pada taraf uji 1 % yang berarti bahwa pengaruh kombinasi antara bakteri-bakteri probiotik menunjukkan perbedaan yang nyata dalam menghambat pertumbuhan *V. harveyi*. Menurut Sugita *et al.* (1996), hal ini disebabkan karena bakteri-bakteri probiotik ini mampu memproduksi senyawa antimikroba yang merupakan salah satu bentuk kompetisi untuk memperoleh nutrisi dan energi. Mekanisme tersebut dipercaya mampu menghambat pertumbuhan patogen dalam intestinum dan pada permukaan tubuh inang atau lingkungan. Senyawa-senyawa penghambat tersebut

sangat beragam, diantaranya berupa siderofor, bakteriosin, lisozim, protease, hidrogen peroksidase, dan asam-asam organik (Sugita *et al.*,1996). Siderofor adalah senyawa dengan berat molekul yang rendah (<1500) dan merupakan agensia spesifik pengikat ion-ion feri dan dapat melarutkan presipitat besi dan merubahnya menjadi bentuk yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroba. Dengan kemampuan membentuk siderofor menyebabkan organisme lain, khususnya patogen hewan akuatik tidak mampu mendapatkan unsur tersebut dan menjadi terhambat (Gram *et al.*, 1999 Rengpipat *et al.*, 2000).

Untuk mengetahui kombinasi perlakuan yang menghasilkan diameter hambatan terbesar, hasil analisis sidik ragam tersebut dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan yang terlihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji Jarak Berganda Duncan Diameter Daerah Hambatan Bakteri Probiotik Terhadap *V. harveyi* Pada Masa Inkubasi 24 Jam

Kombinasi	Rata-Rata Daya Hambat (mm)	Keterangan
B	6,28	a
ABC	7,1	a b
C	7,2	a b
A	7,31	a b
AB	7,65	a b
BC	8,1	a b
AC	9,85	b

Keterangan :

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menyatakan berbeda tidak nyata menurut uji Duncan pada taraf uji 1% (0,01).

- A : *Bacillus* sp terhadap *V. harveyi*
- B : *Photobacterium* sp terhadap *V. harveyi*
- C : *LactoBacillus* sp terhadap *V. harveyi*
- AB : *Bacillus* sp + *Photobacterium* sp terhadap *V. harveyi*
- AC : *Bacillus* sp + *LactoBacillus* sp terhadap *V. harveyi*
- BC : *Photobacterium* sp + *LactoBacillus* sp terhadap *V. harveyi*
- ABC : *Bacillus* sp + *Photobacterium* sp + *LactoBacillus* sp terhadap *V. harveyi*

Pada tabel 2 menunjukkan bahwa diameter daerah hambatan terkecil terjadi pada perlakuan B yang berbeda tidak nyata dengan perlakuan ABC, C, A, AB, dan BC, tetapi berbeda nyata dengan perlakuan AC. Perlakuan B memiliki rata-rata diameter daerah hambatan terkecil diantara semua perlakuan sedangkan perlakuan AC memiliki rata-rata diameter daerah hambatan terbesar diantara semua perlakuan. Hal ini disebabkan karena *Photobacterium* sp hanya mampu menghambat (bakteriostatik) pertumbuhan *V.harveyi* sedangkan *LactoBacillus* sp dan *Bacillus* sp menghasilkan mampu membunuh (bakteriosidal) *V.harveyi*. Menurut Nurwantoro dan Djarijah (1997), senyawa bioaktif kedua bakteri ini dapat menghambat reaksi dalam dinding sel, oleh karena tekanan osmotik dalam sel *V.harveyi* lebih tinggi daripada di luar sel maka kerusakan dinding sel *V.harveyi* akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakteriosidal. Selain itu, senyawa bioaktif juga dapat merusak permeabilitas selektif dari membran sel *V.harveyi*. kerusakan ini menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel *V.harveyi* yaitu protein, asam nukleat, nukleotida, dan lain-lain.

KESIMPULAN

1. *Bacillus* sp dan *Lactobacillus* sp mampu membunuh (bakterisidal) *V. harveyi*, sedangkan *Photobacterium* sp hanya mampu menghambat (bakteriostatik) pertumbuhan *V. harveyi*.
2. Kombinasi antara *Bacillus* sp dengan *Photobacterium* sp dan *Photobacterium* sp dengan *Lactobacillus* sp hanya mampu menghambat pertumbuhan *V. harveyi*.
3. Kombinasi antara *Bacillus* sp dengan *Lactobacillus* sp dan kombinasi antara *Bacillus* sp, *Photobacterium* sp dengan *Lactobacillus* sp mampu membunuh *V. harveyi*.

DAFTAR PUSTAKA

- Peter H. A., Nicholas S.M., Elisabeth S.M., Holt G.J., 1986. *Systematic Bacteriology Vol 1*. William & Wilkins. Los Angeles. 964 pp.
- Gibson, G.R., Saavendra, J. M., MacFarlane, G.T., 1997. *Probiotic and Intestinal Infection*. In Fuller, R.(Ed.). Probiotics 2, Application and Practical Aspects. Chapman and Hall. London.
- Gram, L., Melchiorson, J., Spanggaard, B., Huber, I., Nielsen, T.F., 1999. *Inhibition of Vibrio anguillarum by Pseudomonas fluorescens AH2, a Possible Probiotic Treatment of Fish*. Applied and Environmental Microbiology. 65: 969.
- Fooks, L.J., dan Gibson, G.R., 2002. *In Vitro Investigation of The Effect of Probiotics and Prebiotics on Selected Human Intestinal Pathogens*. FEMS Microbiology Ecology. 39: 67.
- Irianto, A., 2003. *Probiotik Akuakultur*. UGM Press, Yogyakarta.
- Moriarty, D. J. W., 1999. *Disease Control In Shrimp Aquaculture With Probiotic Bacteria*. In : Bell, C.R. ; Brylinsky, M. dan John – Green, P. (Eds). Microbial Biosystem: New Frontiers. Proceeding of The 8th International Symposium On Microbial Ecology. Atlantic Canada Society For Microbial Ecology. Halifax.
- Moriarty, D. J. W., 2001. *Control of Luminous Vibrio sp in Penaeid Aquaculture Ponds*. Department of Chemical Engineering. The University of Quesland. Journal Aquaculture.
- Sugita, H., Kawasaki, J., Kumazawa, J., Deguchi, Y., 1996. *Production of Amylase by The Intestinal Bacteria of Japanese Coastal Animals*. Letter In Applied Microbiology. 23: 174.
- Rengpipat, S., Rukpratanporn, S., Piyatiratitivorakul, S., Menasateva, P., 2000. *Immunity enhancement in Black tiger Shrimp (Penaeus monodon) by a probiont bacterium (Bacillus s11)*. Aquaculture : 271.