

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Heterotrofik pada Perairan Laut Kawasan Pemukiman dan Perairan Bersalinitas Rendah Di Kelurahan Purnama Dumai Provinsi Riau

By

Mayda Susana ¹⁾, Feliatra ²⁾, Iesje Lukistyowati ²⁾

E-mail: maydasusana1@gmail.com

ABSTRAK

Bakteri heterotrof adalah bakteri yang menggunakan karbon organik dan nitrogen anorganik sebagai sumber energi. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Desember 2016 sampai Januari 2017. Tujuan penelitian adalah untuk mengisolasi, mengetahui kemampuan isolat bakteri sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen dan mengetahui karakteristik bakteri heterotrofik yang diisolasi dari perairan laut kawasan pemukiman dan perairan bersalinitas rendah berdasarkan metode PCR teknik sekuens 16S rDNA. Isolasi dan identifikasi morfologi, uji biokimia dan uji antibakteri dianalisis di Laboratorium Mikrobiologi Laut Universitas Riau. Analisis DNA dan proses PCR dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Riau. Proses sekuensing DNA dilakukan di PT. Genetika Science Indonesia Jakarta Barat. Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan 23 isolat bakteri murni dan hanya 7 isolat yang dapat disekuensing. Isolat bakteri 20M2, 20M4, 20M5, 20M11, 30M6, 30M7 dan 30M8 mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Berdasarkan sistem BLAST yang diakses melalui World Wide Web, bakteri yang diisolasi adalah: *Bacillus toyonensis* strain ACOPR1ISOXg, *Bacillus subtilis* strain Y37, *Enterobacter cloacae* strain ENC-3, *Clostridium acetobulylicum* strain S512, *Bacillus cereus* strain 4PLGES, *Bacillus cereus* strain ML267 dan *Bacillus thuringensis* strain C17.

Kata Kunci : bakteri hetrotrofik, isolasi, karakterisasi, 16S rDNA.

¹Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

²Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

Isolation and Characterization of Heterotrophic Bacteria from Residential Area and Low Salinity Seawater in Purnama Village Dumai Riau Province

By

Mayda Susana ¹⁾, Feliatra ²⁾, Iesje Lukistyowati ²⁾

E-mail: maydasusana1@gmail.com

ABSTRACT

Heterotrophs is a bacteria that use organic carbon and inorganic nitrogen as a food source. The research was conducted from December 2016 to January 2017. The aim at this study was to isolate, determine the ability of bacteria isolates as an antibacterial to pathogenic bacteria and determine the characteristics of heterotrophic bacteria isolated from residential area and low salinity seawater based on PCR method technique 16S rDNA sequences. Isolation and identification morphology, biochemical test and antibacterial tests were analyzed in Marine Microbiology Laboratorium of Riau University. DNA and PCR analysis process was conducted in Biology Laboratorium of Riau University. The sequencing DNA process was conducted in PT. Genetika Science Indonesia, West Jakarta. The result showed that the twenty three pure isolates bacteria and only seven isolates could be sequenced. Bacterial isolates 20M2, 20M4, 20M5, 20M11, 30M6, 30M7 and 30M8 able to inhibit the growth of pathogenic bacteria. Based on the BLAST system accessed via World Wide Web, the isolated bacteria were: *Bacillus toyonensis* strain ACOPR1ISOXg, *Bacillus subtilis* strain Y37, *Enterobacter cloacae* strain ENC-3, *Clostridium acetobulylicum* strain S512, *Bacillus cereus* strain 4PLGES, *Bacillus cereus* strain ML267 and *Bacillus thuringensis* strain C17.

Keywords: heterotrophic bacteria, isolation, characterization, 16S rDNA.

¹Student Faculty of Fisheries and Marine University of Riau, Pekanbaru

²Lecturer Faculty of Fisheries and Marine University of Riau, Pekanbaru

PENDAHULUAN

Kota Dumai termasuk daerah pesisir yang merupakan kota yang sangat cepat perkembangannya di bidang industri. Sepanjang pantai Dumai terdapat perusahaan industri pengolahan *Crude Palm Oil* (CPO) yang rentan pencemaran lingkungan karena limbah industri yang langsung dibuang ke perairan. Perairan laut Dumai juga merupakan perairan estuari (ditandai dengan adanya Sungai Masjid dan Sungai Dumai) yang dipengaruhi oleh aktivitas dari daratan, serta perairan yang menerima masukan dari berbagai jenis limbah yang berasal dari berbagai kegiatan di Kota Dumai dan sekitarnya.

Mikroorganisme laut pada dasarnya sangat beragam, sebagaimana halnya dengan kerabat mikroorganisme yang ada di darat. Organisme yang dapat dikelompokkan sebagai mikroba laut antara lain adalah protista, sianobakteri (*cyanobacteria*), bakteri, jamur dan virus. Mikroorganisme tersebut berperan penting dalam proses-proses yang berlangsung dalam kolom-kolom air laut (Feliatra, 2010). Bakteri adalah organisme yang paling banyak jumlahnya dan tersebar luas dibandingkan makhluk hidup lainnya. Adanya populasi bakteri merupakan indikator sanitasi yang menunjukkan bahwa air telah tercemar oleh buangan limbah. Bakteri umumnya bersifat fakultatif dan heterotrofik, dapat hidup tanpa oksigen secara mutlak atau dapat hidup tanpa adanya oksigen.

Bakteri heterotrofik adalah bakteri yang hidup dengan memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungan karena tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat-zat organik diperoleh dari sisa organisme lain, sampah atau zat-zat yang terdapat di dalam tubuh organisme lain (Supriharyono, 2009).

Menurut Palimirmo *et al.*, (2016) bakteri heterotrofik berfungsi sebagai dekomposer dan terkait erat dengan siklus hara terutama nitrat dan fosfat.

Bakteri heterotrofik dan mikroorganisme lainnya merupakan organisme yang berperan penting dalam siklus biogeokimia di dalam ekosistem perairan, karena bakteri mampu melakukan dekomposisi dan remineralisasi bahan-bahan organik menjadi komponen anorganik yang lebih sederhana dan merupakan hara untuk fitoplankton, perifiton dan mikroflora akuatik lainnya. Oleh karena itu aktivitas bakteri menjadi sangat penting diperaian (Kunarso dan Agustin, 2012).

Keberadaan bakteri heterotrofik sangat dipengaruhi oleh masukan bahan organik dari daratan yang masuk melalui muara sungai ke dalam perairan laut Dumai. Oleh karena itu, penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang isolasi dan karakterisasi bakteri heterotrofik pada perairan laut kawasan pemukiman dan perairan bersalinitas rendah di Kelurahan Purnama Dumai Provinsi Riau.

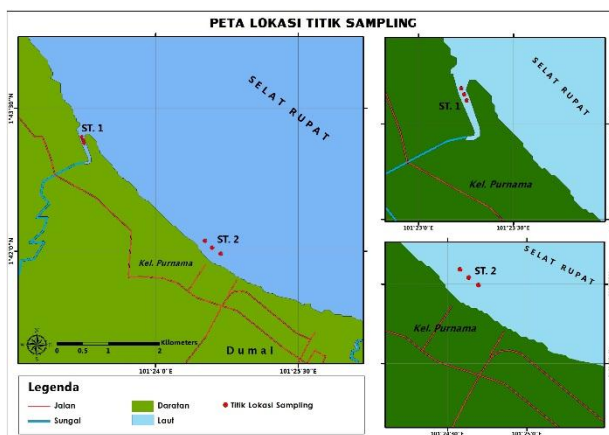
Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengetahui kemampuan isolat bakteri sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen dan mengetahui karakteristik bakteri heterotrofik dengan sekuens 16S rDNA pada perairan laut di Kelurahan Purnama kota Dumai Provinsi Riau.

METODELOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Desember 2016 sampai Januari 2017. Pengambilan sampel dengan menggunakan *Van dorn water sampler* yang dilakukan di 2 stasiun dari perairan kawasan pemukiman dan perairan bersalinitas rendah di

Kelurahan Purnama Dumai, Provinsi Riau (Gambar 1). Isolasi dan identifikasi secara morfologi, uji biokimia dan uji antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Tahap analisis DNA bakteri dan proses PCR dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Riau. Selanjutnya proses purifikasi dan sekuensing dilakukan oleh pihak *First Base Malaysia* yang dikirim oleh PT. Genetika Science Indonesia, Jakarta Barat.



Gambar 1. Peta Lokasi Stasiun Penelitian

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode survei, dimana sampel yang digunakan yaitu sampel air laut dari perairan Kelurahan Purnama Dumai untuk diidentifikasi dan analisis DNA. Serta metode eksperimen dimana dilakukan untuk uji antibakteri pada tiga bakteri patogen yang berbeda.

Data yang diperoleh dari hasil isolasi, identifikasi, analisis dan disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Data kemudian dibahas secara diskriptif berdasarkan literatur untuk diambil suatu kesimpulan.

Sumber dan Isolasi Bakteri

Metode agar sebar (*Spread Plate*) digunakan pada proses isolasi bakteri

heterotrofik. Sampel air laut diambil sebanyak 1 ml, lalu dimasukkan kedalam larutan fisiologis (NaCl 1%) untuk memperoleh pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-6} . Serial pengenceran dari sampel dilakukan dengan menggunakan 1% NaCl. Kemudian pada pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} diambil sebanyak 0,1 μ l dan ditumbuhkan pada media padat *Nutrien Agar* (NA). Media yang ditumbuhkan bakteri diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 28 – 30 °C didalam inkubator dengan posisi cawan terbalik. Semua tahapan dilakukan secara aseptis.

Koloni bakteri yang tumbuh direinokulasi secara berulang hingga didapatkan isolat murni. Permurnian bakteri dilakukan dengan metode goresan (*Streak Plate*). Masing-masing cawan petri dari hasil penanaman bakteri diambil beberapa koloni bakteri yang menampakkan morfologi yang berbeda. Koloni bakteri tersebut digoreskan pada permukaan media NA, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 1 x 24 jam. Setelah masa inkubasi diamati pertumbuhannya, jika masih belum diperoleh kultur murni, maka pemurnian dengan metode goresan kembali dilakukan.

Identifikasi Bakteri

Isolat bakteri yang didapat diidentifikasi secara morfologi dan biokimia. Pengamatan morfologi meliputi bentuk sel, warna koloni, ukuran koloni dan tipe koloni. Uji biokimia meliputi pewarnaan gram, uji katalase, uji methyl red, uji motilitas, uji indol, uji sitrate dan uji sulfida (H_2S).

Uji Antimikroba

Pengujian aktivitas antagonistik atau konfrontasi dengan bakteri patogen dilakukan dengan metode difusi agar, yang

mengacu pada metode menurut Wolf dan Gibbons *et al.*, (1996). Sebanyak satu ose dari setiap isolat bakteri diinokulasi pada 10 ml medium *Nutrien borth* (NB) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C. Kultur bakteri tersebut diteteskan sebanyak 0,5 µl pada *paperdisc* dan dibiarkan selama 15 menit agar kultur bakteri meresap, kemudian *paperdisc* yang sudah berisi bakteri tersebut diletakkan diatas media yang berisi bakteri patogen (*V. alginolyticus*, *A. hyrophila* dan *Pseudomonas* sp) pada media NA dan diinkubasi pada suhu 28°C selama 24 jam. Kemampuan penghambatan pertumbuhan bakteri patogen ditandai dengan terbentuknya zona jernih disekitar *paperdisc*. Sebagai kontrol positif digunakan *Amoxan* dan kontrol negatif digunakan NB tanpa isolat bakteri. Zona hambat dihitung dengan mengukur diameter zona jernih dalam mm disekitar *paperdisc* dengan menggunakan jangka sorong.

Isolasi dan Amplifikasi DNA

Isolasi DNA bakteri heterotrofik dilakukan melalui proses ekstraksi. Dalam mengekstraksi DNA bakteri heterotrofik diambil sebanyak 1,5 ml sampel yang telah dimurnikan dengan media cair *Nutrien Borth* (NB). Selanjutnya proses ekstraksi ini menggunakan empat larutan yaitu larutan *WI Buffer*, *Gel DNA Binding (GB Buffer)*, *Wash Buffer* dan *Elution Buffer* dan disentrifus pada 13.000 rpm. Selanjutnya dilakukan PCR dengan sekuen 16S rDNA menggunakan mesin *Thermal Cycler*. Untuk proses PCR 16S volume 50 µl, kedalam mikrotube 0,2 ml dimasukkan bahan-bahan sebagai berikut: aquabides 90 µl, primer 24F 1 µl, primer 1541R 1 µl, DNA tamplate 1 µl dan master mix 49 µl sehingga volume total 50 µl. Kemudian,

mesin *Thermal cycler* dijalankan dengan pengaturan suhu sebagai berikut: suhu denaturasi 94 °C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 50,7 °C selama 45 detik, ekstensi pada suhu 72 °C selama 1 menit 30 detik. Kegita proses ini dijalankan sebanyak 30 siklus selama 1 jam.

DNA yang telah diamplifikasi diuji dengan elektroforesis pada gel agarose 1,2% (untuk melihat fragmen DNA). Larutan Tris acetate EDTA (TAE) 100 ml ke dalam elektroforesis hingga gel agarose terendam. Kemudian dilakukan preparasi DNA marker sebanyak 1 µl, sampel hasil PCR diambil sebanyak 2 µl dan ditambah dengan *loading dye* sebanyak 1 µl. Kemudian disuntikkan ke dalam lubang sumuran dengan menggunakan mikropipet. Pasang tutup elektroforesis dan aliran listrik akan dihidupkan dengan voltage diatur 70 V selama 25 menit atau hingga indikator warna *bromphenol blue* bergerak $\frac{3}{4}$ bagian dari panjang gel. Setelah warna *bromphenol blue* mencapai 75 % dari panjang gel, proses dihentikan dan gel agarose direndam dalam larutan *ethidium bromide* (EtBr) selama 5 menit. Untuk menghentikan proses pewarnaan, maka gel agarose direndam dalam akuades selama 10 menit. Kemudian gel agarose diletakkan diatas UV transiluminator untuk dilakukan pengamatan band yang terbentuk.

Analisis Sekuen

Sekuens DNA isolat bakteri heterotrofik dibandingkan dengan sekuen DNA pada DNA Database Gen Bank. Penelusuran dilakukan dengan sistem internet, yaitu melalui sistem BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) yang diakses melalui *The World Wide Web* dengan alamat <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Parameter Kualitas Perairan

Proses pengambilan sampel dilakukan pada 2 stasiun dengan masing masing stasiun diambil pada 3 titik sampling dengan jarak 50 m. dan dilakukan pengukuran kualitas air untuk mengetahui kondisi lingkungan stasiun pada saat pengambilan sampel. Hasil pengukuran kualitas air, sampel diambil pada siang hari dengan pH perairan berkisar antara 6-7. Dengan salinitas perairan pada stasiun 1 berkisar 20 ‰, dan pada stasiun 2 berkisar antara 30 ‰. Dengan suhu 28-30°C. Kecerahan berkisar antara 40-60 cm. kuat arus berkisar antara 0,10-0,34 m/det.

Identifikasi Bakteri secara Morfologi, Sifat Fisika dan Kimia

Berdasarkan lokasi pengambilan sampel air dan isolasi, maka didapatkan 23 isolat bakteri heterotrofik. Namun, berdasarkan dari kondisi morfologi yang baik dan daya hambat antimikroba (zona bening) paling besar dari setiap isolat, hanya dipilih 7 isolat untuk analisis sekuen 16S rDNA.

Secara umum isolat bakteri yang didapatkan adalah bakteri gram positif, bersifat katalase positif, 16 isolat bersifat motilitas positif dan 7 isolat bersifat motilitas negatif, 14 isolat bersifat methyl red positif dan 9 bersifat methyl red negatif, bersifat sitrat negatif dan 1 isolat bersifat positif. Sel yg banyak dijumpai berbentuk batang dan 2 isolat berbentuk bulat. Semua isolat bakteri bersifat sulfida negatif dan bersifat indol negatif (Tabel 1).

Uji Antimikroba terhadap Bakteri Patogen

Hasil yang diperoleh pada Uji antibakteri dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 2. Masing masing isolat bakteri memiliki kemampuan dalam menghambat

pertumbuhan bakteri patogen, yang ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar kertas cakram (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil Uji antibakteri, luas zona bening isolat bakteri heterotrofik

Menurut Greenwood dalam Pratama (2005), bahwa klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri apabila diameter zona hambat lebih besar dari 20 mm maka respon hambatan pertumbuhannya sangat kuat, apabila diameter zona hambat berkisar antara 10-20 mm maka respon hambatan pertumbuhannya dikategorikan kuat, apabila diameter zona hambat berkisar antara 5-10 mm maka respon hambatan pertumbuhannya dikategorikan sedang, sedangkan diameter zona hambat lebih kecil dari 5 mm maka respon hambatan pertumbuhannya dikategorikan lemah.

Dilihat dari respon hambat untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio alginolyticus*, menunjukkan bahwa 2 isolat memiliki respon hambat yang tergolong sedang yaitu isolat 20M5 dan isolat 20M11. Nilai daya hambat yang paling tinggi terdapat pada isolat 20M8 menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut memiliki respon hambat yang tergolong kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio alginolyticus*. Sedangkan 19 isolat lainnya memiliki respon hambat yang tergolong lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio alginolyticus*.

Dilihat dari respon hambat untuk pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*, menunjukkan bahwa 5 isolat memiliki respon hambat yang tergolong sedang yaitu isolat 20M2, 20M5, 20M11, 30M6 dan 30M8. Nilai daya hambat yang paling tinggi terdapat pada isolat 20M10. Sedangkan 17 isolat bakteri memiliki respon hambat yang tergolong lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*.

Dilihat dari respon hambat untuk pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* sp., menunjukkan bahwa 3 isolat memiliki respon hambat yang tergolong sedang yaitu isolat 20M4, 20M11 dan 30M7. Nilai daya hambat yang paling tinggi terdapat pada isolat 20M11 menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut memiliki respon hambat yang tergolong sedang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* sp.. Sedangkan 20 isolat bakteri memiliki respon hambat yang tergolong lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* sp..

Hasil isolasi bakteri semua isolat diuji antimikroba terhadap bakteri patogen dan didapatkan satu isolat (isolat 20M11) merupakan isolat terbaik yang mampu menghambat pertumbuhan ketiga bakteri patogen (*V. alginolyticus*, *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp.) dengan daya hambat yang sedang.

Bakteri heterotrofik yang diuji dengan bakteri patogen (*V. alginolyticus*, *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp.) membentuk hambatan, bakteri heterotrofik tersebut menghasilkan produk antibiotik, bakteriosin, ataupun asam organik tertentu. Hal ini sesuai dengan pendapat Verschuere *et al.* (2000), populasi mikroba dapat melepaskan substansi kimia yang mempunyai kemampuan bakteisidal atau bakteriostatik yang dapat mempengaruhi

populasi mikroba lain. Secara umum kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri lain dikarenakan oleh beberapa faktor seperti: produksi antibiotik, bakteriosin, siderophores, lisosom, protease dan hidrogen peroksida atau mempengaruhi pH media dengan menghasilkan asam organik tertentu. Agen antibakteri seperti asam laktat dan bakteriosin yang dimiliki bakteri probiotik dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Fauziah *et al.*, 2012). Hal ini dikarenakan agen antibakteri mampu menurunkan pH menjadi rendah sehingga bakteri patogen sulit bertahan hidup (Tambekar dan Bhutada, 2010).

Tabel 1. Hasil Uji Biokimia Bakteri dari Masing-masing Isolat

Uji Biokimia	Isolat Stasiun 1												
	20M1	20M2	20M3	20M4	20M5	20M6	20M7	20M8	20M9	20M10	20M11	20M12	20M13
Pewarnaan Gram	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Methyl red</i>	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+
Motilitas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sitrate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Indol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bentuk sel	Btg	Btg	Btg	Btg	Blt	Btg	Btg	Btg	Btg	Btg	Btg	Btg	Btg

Uji Biokimia	Isolat Stasiun 2									
	30M1	30M2	30M3	30M4	30M5	30M6	30M7	30M8	30M9	30M10
Pewarnaan Gram	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Methyl red</i>	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Motilitas	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+

Sitrate	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Indol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bentuk sel	Btg	Btg	Btg	Btg	Btg	Btg	Blt	Btg	Btg	Btg

Sumber: Data Primer 2017

Keterangan:

- : Uji bersifat negatif

+ : Uji bersifat positif

Btg : Batang

Blt : Bulat

Tabel 2. Hasil Uji Antimikroba terhadap Bakteri Patogen (*V. alginolyticus*, *A. hydrophila*, *Pseudomonas* sp)

Isolat Bakteri	Diameter Zona Hambat (mm)																	
	<i>V. alginolyticus</i>						<i>A. hydrophila</i>						<i>Pseudomonas</i> sp.					
	(+)	(-)	U1	U2	U3	R(mm)	(+)	(-)	U1	U2	U3	R(mm)	(+)	(-)	U1	U2	U3	R(mm)
20M1	3	0	2	3	6,5	3,8	3	0	3	1	1	1,6	10,5	0	5	3,5	4	4,1
20M2	6	0	4	3,5	3	3,5	7	0	6	7	7	6,6	5	0	2,5	1	3	2,1
20M3	5,5	0	1	1	1	1	11	0	2	3	4	3	4,5	0	3	3	1,5	2,5
20M4	5	0	3	2	2,5	2,5	3	0	2,5	3	5	3,5	10	0	6	4	5	5
20M5	5	0	5	5,5	5	5,1	4	0	5	6,5	8	6,5	8	0	4	3	4	3,6
20M6	9	0	5	3,5	2,5	3,6	4	0	5	3	3	3,6	6,5	0	2	5	3	3,3
20M7	4	0	4	5	4	4,3	6	0	1,5	2	3	2,1	6,5	0	1	3	4,5	2,8
20M8	12	0	11	12	9,5	10,8	3,5	0	7	3	3	4,3	5,5	0	4	5	4,5	4,5
20M9	7,5	0	3	3	3	3	7	0	1	5	7	4,3	4,5	0	4	3	2,5	3,1
20M10	4,5	0	5	5	4	4,6	3	0	2,5	4,5	5	17,5	10,5	0	3	7	3	4,3
20M11	14	0	12	11	6	9,6	6	0	2	6	9	5,6	7,5	0	4	7,5	9	6,8
20M12	9	0	3	4,5	5	4,1	3	0	1	2	1,5	1,5	4	0	3	3	3,5	3,1
20M13	5	0	5,5	3,5	3	4	5	0	3	7	1,5	3,8	3	0	2,5	1	1	1,5
30M1	7	0	1,5	2	2	1,8	7	0	1	1	4	2	4	0	4	2,5	2	2,8
30M2	5	0	2,5	2,5	3	2,6	5	0	2,5	4	4,5	3,6	10,5	0	3,5	4	2,5	3,3
30M3	3	0	4	5	6	5	7	0	2	3	5	3,3	4,5	0	3	2,5	1	2,1
30M4	4	0	2	4,5	5	3,8	2,5	0	2	2,5	0	1,5	6,5	0	2	0	2	1,3
30M5	3	0	2	0	0	0,6	2,5	0	3,5	4	4	3,8	5	0	2	0	1,5	1,1
30M6	8	0	4	5	6	5	4,5	0	2,5	8	7	5,8	1	0	0	3,5	1	1,5
30M7	2	0	0	4	5	3	3	0	2,5	4	5,5	4	2	0	6	9,5	4	6,5
30M8	2	0	3,5	7	2,5	4,3	13	0	10	6,5	7	7,8	1	0	0	1	1	0,6
30M9	2,5	0	4	3	2	3	7	0	6	2,5	3	3,8	2	0	4	0	0	1,3
30M10	3	0	5	4	5	4,6	3	0	1	1	2	1,3	10	0	0	2	1	1

Sumber: Data Primer 2017

Keterangan:

(+): Kontrol positif (*Amoxan*)

U1: Ulangan 1

U3: Ulangan 3

(-) : Kontrol negatif (*Nutrien borth*)

U2: Ulangan 2

R(mm) : Rata-rata dalam satuan millimeter

Analisis Sekuens Bakteri Heterotrofik

Berdasarkan homologi nukleotida 7 isolat yang dianalisis, yaitu isolat A (20M5), isolat B (20M8), isolat C (20M10), isolat D (20M11), isolat E (30M2), isolat F (30M7) dan isolat G (30M8) (Tabel 3). Dari hasil penelusuran dan perbandingan dengan 16S rDNA dengan sekuen 16S rDNA yang sudah dikenal dari BLAST database didapatkan bahwa isolat A, isolat B, isolat D dan isolat F merupakan isolat bakteri yang memiliki genus sama tapi berbeda spesies. Sedangkan pada isolat C, isolat E dan isolat G merupakan isolat bakteri yang memiliki spesies sama.

Hagstrom dalam Lusiano (2007) menyatakan bahwa isolat yang mempunyai persamaan sekuen 16S rDNA lebih dari 97% dapat mewakili pada tingkat spesies yang sama. Persamaan sekuen 16S rDNA antara 93% - 97% dapat mewakili identitas pada tingkat genus tetapi berbeda pada tingkat spesies. Sedangkan jika dibawah 93% kemungkinan spesies baru yang urutan basa nitrogennya belum masuk dalam data base gen bank.

Isolat A mempunyai kemiripan homologi dengan *Bacillus toyonensis* strain ACOPR1ISOXg dengan tingkat homologi sebesar 95% dengan panjang basa 1541 bp. Ini berarti tingkat homologinya sama sampai tingkat genus tetapi berbeda pada tingkat spesies. Berdasarkan penelitian Casanovas *et al.*, (2014), bakteri *B. toyonensis* yang membentuk spora yang layak digunakan sebagai bahan aktif dari TOYOCERIN pakan aditif. Hal ini didukung dalam penelitian Jimenez *et al.*, (2013), yang menyatakan bahwa TOYOCERIN telah menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri patogen.

Isolat B mempunyai kemiripan homologi dengan *B. subtilis* strain Y37

dengan tingkat homologi sebesar 96% dengan panjang basa 1608 bp. Ini berarti tingkat homologinya sama sampai tingkat genus tetapi berbeda pada tingkat spesies. Menurut Pant *et al.*, (2015), yang menyatakan bahwa bakteri *B. subtilis* berbentuk batang dan mampu membentuk endospora. Bakteri ini berperan dalam bidang kesehatan yaitu dapat menghasilkan antibiotik jenis basitrasin, dan juga berperan dalam bidang industri yang dapat menghasilkan amilase bakteri atau bahan yang dapat memodifikasi pati, merekatkan kertas, dan melepaskan perekat pada tekstil. Bakteri *B. subtilis* dapat ditemukan pada sedimen sungai maupun laut (Tariq *et al.*, 2016).

Isolat C mendekati spesies *Enterobacter cloacae* strain Enc-3 dengan tingkat homologi sebesar 99% dengan 1469 bp. Ini berarti tingkat homologinya sama sampai tingkat spesies. Menurut Lina *et al.*, (2012), *Enterobacter cloacae* hidup diberbagai jenis lingkungan, di darat maupun perairan (air, limbah, tanah dan makanan). Strain ini hidup sebagai komensal mikroflora dalam saluran usus manusia dan hewan, dan memainkan peran penting sebagai patogen pada tanaman dan serangga.

Isolat D mempunyai kemiripan homologi dengan *Clostridium acetobutylicum* strain S512 dengan tingkat homologi sebesar 96% dengan panjang basa 1542 bp. Ini berarti tingkat homologinya sama sampai tingkat genus tetapi berbeda pada tingkat spesies. *Clostridium acetobutylicum* adalah bakteri yang bernilai komersial, yang tergolong dalam genus Clostridium. Bakteri ini merupakan gram positif berbentuk batang. *Clostridium acetobutylicum* paling banyak ditemukan di tanah, meskipun telah ditemukan di sejumlah lingkungan yang

berbeda. Menurut Logan dan Devos (2009), bakteri *Clostridium acetobutylicum* dapat ditemukan di tanah, sedimen danau, air sumur, clum usus, tinja sapi, kotoran anjing dan kotoran manusia.

Bacillus cereus terdapat pada isolat E dan F. Isolat E mempunyai kemiripan homologi dengan *B. cereus* strain 4PLGES dengan tingkat homologi 99% dengan panjang basa 756 bp. Ini berarti tingkat homologinya sama sampai tingkat spesies. Sedangkan isolat F mempunyai kemiripan homologi dengan *B. cereus* strain ML267 dengan tingkat homologi sebesar 96% dengan panjang basa 1517 bp. Ini berarti tingkat homologinya sama sampai tingkat genus tetapi berbeda pada tingkat spesies.

Habitat utama *B. cereus* adalah lingkungan dan saluran pencernaan. Terutama tanah dan air yang menyebabkan bakteri ini mempunyai peluang yang besar untuk mencemari bahan makanan asal hewan maupun tanaman. Bakteri ini dapat menempel pada sepatu, pakaian, kulit pekerja serta dapat melalui udara ataupun debu (Fatmasari, 2015).

Menurut Khetan (2001), menyatakan bahwa bakteri *B. cereus* adalah salah satu agen patogen memiliki potensi besar untuk digunakan sebagai kontrol biologis. Bakteri ini memiliki host tertentu yang tidak berbahaya bagi musuh alami hama dan organisme non-target lainnya, mudah terurai oleh lingkungan dan patogenisitas yang dapat ditingkatkan dengan teknik rekayasa genetika. Bakteri *B. cereus* merupakan bakteri probiotik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen yaitu *Vibrio* sp dan *Aeromonas* sp (Feliatra *et al.*, 2012).

Isolat G mempunyai kemiripan homologi dengan *B. thuringiensis* strain C17 dengan tingkat homologi sebesar 97% dengan panjang basa 1546 bp. Ini berarti

tingkat homologinya sama sampai tingkat spesies. *B. thuringiensis* merupakan jenis bakteri heterotrof dan hidup pada lingkungan dengan kondisi yang baik dan yang cukup. Menurut Krieg *dalam* Lantang dan Runtuboi (2012), *B. thuringiensis* terdapat di alam dan dapat dijumpai diberbagai macam habitat, seperti tanah, air dan lumpur.

B. thuringiensis ini bisa menghasilkan dua jenis toksin: yaitu toksin kristal (Crystal, Cry) dan toksin sitolitik (cytolytic, Cyt). Toksin Cyt dapat memperkuat toksin Cry sehingga banyak digunakan untuk meningkatkan efektivitas dalam mengontrol insekta. Beberapa studi telah mampu mengisolasi dan memurnikan bakteriosin dari *Bacillus* sp. yang diproduksi oleh *B. cereus* (Oscariz dan Pisabarro, 2000), dan toksin yang dihasilkan oleh *B. thuringiensis* (Paik *et al.*, 1997).

Berdasarkan hasil penelitian Douville *et al.*, (2007), menjelaskan bahwa *Bacillus thuringiensis* merupakan toksin yang stabil ditemukan dalam konsentrasi yang sangat rendah dalam lingkungan air dan yang didegradasi lebih cepat dalam air dari pada dalam tanah. Data menunjukkan bahwa DNA dari *B. thuringiensis* dari hasil kegiatan pertanian tetap dijumpai dalam lingkungan perairan dan terdeteksi di aliran sungai yang berada pada daerah pertanian.

	GAAATAATTTCCCGGGCCTTTTAAACACCCGCCGTGAACACGCGAGATTGTTAAACCCCAAAATCGGGGGGGAACCTTTTGAACCACCCGCCAAAGGGGGACAAAATATTGGGGGAAAGTCAAAAAGCTCAA TGGGAAAGGGGGCGGGGGCAGGCGCGCCTAATAATAAAAAAAAAGGGGGGTTGGGGGGAA
E	CCAGAGGCATCCCGGGCTATAATGCAGTCGAGCGATGGATTAAGAGCTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGGCAGCGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCATAAGACTGGGATAACTCCGGGAACCGGGGC TAATACCGGATAACATTTGAACCGCATGGTTCGAAATTGAAAGGGCGCTTCGGCTGTCACCTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACC TGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGTCTGT AAAACCTGTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATT ATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTCTTAAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATCCATGTGTAGCGGTGAAATG TGCGTAGAGATATGGAGGAACACCCAGTGGCGAAGGCGACTTCTGGTCTGTAACCTGACACTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGC
F	GTGCATGCCGGCGTGTATAATGCAGTCGAGCGATGGATTAAGAGCTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGGCAGCGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCATAAGACTGGGATAACTCCGGGAACCGGGGCTA ATACCGGATAACATTTGAACCGCATGGTTCGAAATTGAAAGGGCGCTTCGGCTGTCACCTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTG AGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGTCTGTA AAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTAT TGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTCTTAAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATCCATGTGTAGCGGTGAAATG CGTAGAGATATGGAGGAACACAGTGGCGAAGGCGACTTCTGGTCTGTAACCTGACACTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTG TTAGAGGGTTTCCGCCCTTATGCTGAAGTTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAG CAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCTAGAGATAGGGCTTCTCCTTCGGGAGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCA ACGAGCGCAACCCCTTATCTAGTTGCCATCATTTAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTAACACCTTGCTAC AATGGACGGTACAAAGAGCTGCAAGACCCAGGTGGAACCTAATCTCAAAAACCGTTCTCAGTTCGGATTGGAGGCCGCACTCGCCCACTGGAACCTGGGATCCCTTGAATTCGGGATACCCATGCCCGGT GAAAACCTTCCCGGGCCTTGTACAACCGCCCGTCAACACAGAATTTGTAACCCCAAAATGCTGGGGGTAAACTTTTTTGGACCCACCCCTAAGTGGGGCAAAAAATTGGGGTAAATTTACATGGACTTAA GGGGTGGGAGGCGGGGTGGTGTCTGTGCTAA
G	TTGGAAAGCGGGCTATACATGCAAGTCGAGCGAATGGATTAAGAGCTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGGCAGCGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCATAAGACTGGGATAACTCCGGGAACCGGGGC TAATACCGGATAACATTTGAACCGCATGGTTCGAAATTGAAAGGGCGCTTCGGCTGTCACCTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACC TGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGTCTGT AAAACCTGTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATT ATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTCTTAAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATCCATGTGTAGCGGTGAAA TGCGTAGAGATATGGAGGAACACCCAGTGGCGAAGGCGACTTCTGGTCTGTAACCTGACACTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAG TGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTATGCTGAAGTTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGA AGCAACCGGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCTAGAGATAGGGCTTCTCCTTCGGGAGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCG CAACGAGCGCAACCCCTGATCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACTTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTAACACCGTGTCT ACAATGGACGGTACAAAGAGTTGCAAAAACCGCGAGGTGGAACCTAATCCCTAAAAACCGTTTCCAGTTCGGAATGAAGGCTGCACTCCCCACTGAAATCTGGAATCCCTGAAATCCCGGAAACCATGGCCCGCG AAAACCTTCCCGGGCTTGTAAACCGCCCTTACCCCGGAGTTGTAAACCCCGATTCGGGGGAAACCTTTTGGACCCCCCGAGGGGGCAACAATTTGGGGGAATCCCAAGAGTCTTAGAAGGAGAGGA GGGGAGGCTCTCTATAAAGGAAGGGGGGGGGGGGGTGGTGGGGGCTCTCTTCAAATTA

Menurut Anonim (2000), menyatakan bahwa komponen bakteri heterotrof terdiri dari organisme yang memanfaatkan bahan-bahan organik yang disediakan oleh organisme lain sebagai makanannya. Komponen heterotrof disebut juga konsumen makro (fagotrof) karena makanan yang dimakan berukuran lebih kecil. Yang tergolong heterotrof adalah manusia, hewan, jamur dan mikroba. Bakteri yang mendapatkan zat organik dari sampah, kotoran, bangkai dan juga sisa makanan, disebut sebagai bakteri saprofit. Di dalam lingkungan bakteri pembusuk ini berfungsi sebagai pengurai dan penyedia nutrisi bagi tumbuhan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan 23 isolat bakteri murni yang diuji secara morfologi dan biokimia. Hasil isolasi bakteri semua isolat diuji antimikroba terhadap bakteri patogen dan didapatkan 7 isolat (Isolat 20M2, 20M4, 20M5, 20M11, 30M6, 30M7 dan 30M8) mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen (*Vibrio alginolyticus*, *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp.). isolat 20M11 merupakan isolat terbaik yang mampu menghambat pertumbuhan ketiga bakteri patogen tersebut dengan daya hambat yang sedang. Hasil isolasi dan karakterisasi dari ke 7 isolat bakteri dengan sekuen 16S rDNA yang ditemukan termasuk spesies *Bacillus toyonensis*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cloacae*, *Clostridium acetobutylicum*, *Bacillus cereus* dan *Bacillus thuringensis*.

Saran

Penelitian selanjutnya disarankan perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut untuk mengetahui enzim yang dihasilkan dari ketujuh bakteri tersebut, Sehingga enzim yang dihasilkan dapat diaplikasikan kearah proses biokonversi. Serta perlu dilakukan uji lanjut terhadap bakteri patogen lain seperti uji kemampuan dan uji metabolit baik primer maupun sekunder.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2000. Susunan dan Macam Ekosistem. Diakses pada 11 Apr 2010.
- Casanovas, M. A., L. Sala-Comorera, dan A. R. Blanch. 2014. "Quantification of tetracycline and chloramphenicol resistance in digestive tracts of bulls and piglets fed with Toyocerin, a feed additive containing *Bacillus toyonensis* spores," *Vet Microbiol.*, vol. 173, pp. 59–65.
- Douville, M., F. Gagne, C. Blaise dan C. Andre. 2007. *Ecotoxicology and Environmental Safety Journal* 66 195–203.
- Fauziah, P. N., J. Nurhajati, dan Chrysanti. 2012. Penghambatan adhesi berbagai strain *Klebsiella pneumoniae* oleh *Lactobacillus bulgaricus* dalam soyghurt secara in vitro pada Hep-2 cell lines dengan berbagai proses perlakuan infeksi [skripsi]. Bandung: Universitas Padjadjaran. Hlm. 66-75.
- Fatmasari. 2015. Uji Sensitivitas Antibiotik Klorampenikol, Siprofloksasin, Eritromisin Dan Klindamisin Terhadap *Bacillus cereus* Yang Diisolasi Dari Daging Sapi Di Pasar Tradisional Dan Pasar Modern Kota Makassar. *Skripsi*. Makasar: Universitas Hasanuddin.
- Feliatra. 2010. Buku Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Laut. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Pekanbaru.
- Feliatra, Y. Fitria, dan Nursyirwani. 2012. Antagonis Bakteri Probiotik yang Diisolasi dari Usus dan Lambung Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*) Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Perikanan dan Kelautan* 17,1: 16-25.
- Jimenez, G. M., H. Urdiain, A. Cifuentes, Lopez, A. R. Blanch, J. Tamames, P. Kampfer, A. B. Kolsto, D. Ramon, J. F. Martinez, F. M. Codonerg, dan R. Rossello-Mora. 2013. "Description of *Bacillus toyonensis* sp. nov., a novel species of the *Bacillus cereus* group, and pairwise genome comparisons of

- the species of the group by means of ANI calculations,” *Syst. Appl. Microbiol.*, vol. 36, pp. 383–391.
- Khetan S. K., 2001. *Microbial pest control*. Marcell Dekker, Inc. New York, 300 pp.
- Kunarso, D. H dan T.I. Agustin. 2012. Kajian bakteri heterotrofik di Perairan laut Halmahera. *Ilmu Kelautan*. Vol. 17(2). 63-73.
- Lantang, D. dan D. Y. Runtuboi. 2012. Karakterisasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* asal Hutan Lindung Kampus Uncen Jayapura, serta Deteksi Toksisitasnya terhadap Larva Nyamuk *Anopheles*. *Jurnal*. Papua: Universitas Cenderawasih.
- Lina M. M., G. Floriana dan S. Stefania. 2012. *Enterobacter cloacae* Complex: Clinical Impact and Emerging Antibiotic Resistance. *Future Microbiol.* 7(7):887-902.
- Logan, N. A., P. Devos. 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 3: The Firmicutes, Springer, 21-127.
- Lusiano, A. 2007. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Hidrokarbonoklastik dengan Sekuen 16S rDNA dari Sedimen Perairan Dumai. *Skripsi*. Pekanbaru: Universitas Riau.
- Paik H. D., S. S.Bae, S. H. Park, J. G. Pan. 1997. Identification and partial characterization of tochicin, a bacterion produced by *Bacillus thuringiensis* subsp. *tochigiensis*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 19:294-298.
- Palimirmo, F. S., A. Damar dan H. Effendi. 2016. Dinamika Sebaran Bakteri Heterotrofik di Teluk Jakarta. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. Vol. 21 91): 26-34
- Pant, G., A. Prakash, J. V. P. Pavana, S. Bera, G.V.N.S Deviram, A. Kumar, M. Panchpuri dan R. G. Prasuna. 2015. Production, optimization and partial purification of protease from *Bacillus subtilis*. *Journal of Taibah University for Science*, 9, 50–55. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin. Makasar.
- Pratama, M. R. 2005. Pengaruh Ekstrak Serbuk kayu Siwak (*Salvadora persica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Difusi Agar. *Skripsi*. IPB. Bogor.
- Supriharyono. 2009. *Konservasi Ekosistem Sumberdaya Hayati, Di Wilayah Pesisir dan Laut Tropis*. Pustaka Pelajar, Jogjakarta.
- Tambekar, D. H. dan S. A. Bhutada. 2010. An evaluation of probiotic potential of *Lactobacillus* sp. from milk of domestic animals and commercial available probiotic preparations in prevention of enteric bacterial infections. *Recent Research Science and Technology*, 2(10): 82-88.
- Tariq, A. L., S. Sudha dan A. L. Reyaz. 2016. Isolation and screening of bacillus pecies fron sedients and aplication in bioremediation. *Journal of current Microbiology and Applied Science*. Vol 5(6) 916-924.
- Verscheure, L., Rombaut, G., Sorgeloos, B., dan Vestraete, W. 2000. Probiotik Bacteria As Biological Control Agents In Aquaculture. *Microbial and mol. Biol. rev.* 64: 655-671.