

Application of Dry Probiotic Rabal (Yeast and Lactic Acid Bacteria) to Prevent Mas (Motile Aeromonas Septicemia) Disease in Catfish (*Clarias sp.*)

Lukman Anugrah Agung^{1*}, Imas Rohmawati², Eltis Panca Ningsih²

¹Program Studi Ilmu Perikanan, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Kab. Serang, Indonesia;

²Program Studi Agroekoteknologi, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Kab. Serang, Indonesia;

Article History

Received : January 12th, 2022

Revised : February 28th, 2022

Accepted : March 20th, 2022

*Corresponding Author:

Lukman Anugrah Agung,

Program Studi Ilmu Perikanan,

Kab. Serang, Indonesia;

Email:

lukman.anugrah@untirta.ac.id

Abstract: Catfish is one of the important fish commodities in Indonesia. There is some problem that becomes trouble in catfish culture, and the most trouble which cause losses in catfish culture is a disease, especially motile aeromonads septicemia (MAS). The purpose of the study was to analyze the effectiveness of giving dry rabal probiotics for the prevention of motile Aeromonas septicemia (MAS) in catfish (*Clarias sp.*). This experiment consisted of four treatments, namely catfish farming with the addition of dry rabal probiotics with concentrations of 0%, 5%, 10% and 15%. Catfish (6.03 ± 0.38 g) were reared in a rearing tank with a volume (41x50x57 cm) with a density of 15 fish/aquarium for 50 days. Probiotic bacteria were given daily through feed, while the pathogenic bacteria *A. hydrophila* was infected on day 51. The results showed that the treatment of giving dry rabal probiotics through feed was effective in improving the immune, and increasing the survival of African catfish. The 10% (C) rabal probiotic treatment gave the best results with the highest survival rate of $75.56 \pm 3.85\%$.

Keywords: *A. hydrophila*, Dry Probiotic rabal, Survival rate

Pendahuluan

Ikan lele adalah salah satu komoditas perikanan budidaya air tawar populer di Indonesia. Kebutuhan ikan lele untuk memenuhi permintaan konsumsi terus meningkat sepanjang tahun sehingga peningkatan produksi ikan lele diperlukan melalui pengembangan pakan buatan dan peningkatan padat tebar ikan lele. Namun, sering terjadi kegagalan pada implementasi budidaya ikan lele akibat penyakit infeksi yang disebabkan oleh infeksi bakteri, parasit, jamur dan virus. Motile Aeromonad Septicemia (MAS) yang disebabkan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan salah satu penyakit yang mematikan bagi ikan lele dan menyebabkan kerugian budidaya. Menurut Hardi et al. (2014) secara umum gejala klinis yang ditimbulkan yaitu adanya perubahan pola renang, respons pakan yang menurun, adanya bintik merah, sirip gripis, hipertrofi dan hyperplasia sel, serta kerusakan

organ ginjal dan hati. Menurut Lukistyowati dan Kurniasih (2012) kematian masal ikan lele akibat infeksi *A. hydrophila* dapat mencapai 80-90% hanya dalam waktu 1-2 minggu.

Penatalaksanaan penyakit MAS pada ikan meliputi pencegahan dan pengobatan penyakit dengan antibiotik. Namun, hal ini dapat mengakibatkan kerugian usaha budidaya karena penanggulangan dilakukan setelah ikan sakit. Selain itu, penggunaan antibiotik dengan dosis yang kurang sesuai dapat menimbulkan resistensi pada bakteri patogen sehingga dapat meningkatkan virulensi (Balcazar et al., 2006). Residu antibiotik dapat mencemari perairan dan berdampak pada kesehatan akibat residu kimia antibiotik setelah konsumsi ikan (Sukenda et al, 2008). Oleh karena itu, tindakan pencegahan dapat dilakukan dengan pemberian probiotik.

Kemampuan antimikroba probiotik ditunjukkan oleh adanya zat antibiotik, bakteriosin, enzim (lisozim dan protease), atau hidrogen peroksida (Cruz et al. 2012). Bakteri

probiotik bersaing dengan bakteri patogen untuk memanfaatkan nutrisi, dan dapat melindungi ikan dari infeksi melalui peningkatan imunitas ikan (El-Haroun 2007 dan Tuan et al. 2013). Probiotik yang segar (cair) biasa digunakan dalam budidaya. Namun, probiotik dalam bentuk cair memiliki kelemahan seperti viabilitas penyimpanan yang lebih buruk dan ketahanan untuk menempel dan membentuk koloni di usus ikan. Oleh karena itu, diperlukan penggunaan probiotik rabal dalam bentuk kering dengan menambahkan bahan pengisi/filler yang murah dan mudah didapat untuk meningkatkan viabilitas dan ketahanan probiotik dalam usus ikan, serta meningkatkan masa simpan. Tepung dedak dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengisi karena murah, higroskopis, dan dapat digunakan sebagai sumber energi (Lestari et al., 2014; Surianti et al., 2021). Penelitian ini akan mengkaji penggunaan probiotik rabal kering untuk mencegah MAS pada ikan lele, (*Clarias sp.*).

Bahan dan Metode

Penelitian dilakukan di Laboratorium Budidaya Perairan, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa. Prosedur penelitian diantaranya pembuatan probiotik rabal, aplikasi probiotik rabal pada ikan lele melalui pakan, pengukuran parameter hematologi, uji tantang dan pengukuran parameter kelangsungan hidup ikan.

Penyiapan Probiotik Kering Rabal

Penelitian ini menggunakan probiotik kering rabal untuk mencegah infeksi patogen *A. hydrophila*. Komposisi probiotik rabal yaitu 9 L aquades, 0,5 L tetes tebu (molase), 0,25 L air kelapa, serta inokulan rabal sebanyak 0,25 L. Bahan tersebut dihomogenkan dalam wadah 10L, kemudian dilakukan fermentasi 7 hari untuk menghasilkan probiotik rabal cair. probiotik rabal cair tersebut kemudian dicampurkan dalam tepung dedak yang sebelumnya telah disterilkan dengan autoklaf. Pencampuran dilakukan dengan penyemprotan hingga 100% dari bobot tepung dedak (v/w), kemudian dikeringkan dalam suhu ruang untuk menghasilkan probiotik kering rabal.

Pakan

Pakan komersial (protein 32%) dikombinasikan dengan probiotik rabal kering

menggunakan bahan pengikat dalam pakan uji. Untuk setiap konsentrasi, probiotik rabal kering ditimbang: 0% (A), 5% (B), 10% (C), dan 15% (D). Probiotik tersebut dicampur rata dengan perekat komersial sebelum dicampur dengan pakan yang ditimbang sesuai dengan berat harian ikan. Setelah itu, ikan bisa diberi pakan sesuai perlakuan.

Pemberian perlakuan pada ikan uji

12 tangki pemeliharaan disiapkan, kemudian diisi dengan 50 liter air dengan aerasi selama 24 jam. Sebelum digunakan sebagai ikan uji, ikan diaklimatisasi selama tujuh hari untuk memastikan bahwa ikan sehat, responsif terhadap pakan, dan bebas dari luka tubuh. Ikan lele yang digunakan dengan kepadatan 15 ekor per wadah. Setelah masa aklimatisasi, ikan uji diberi pakan probiotik rabal kering selama 50 hari. Pemberian pakan hingga 5% biomassa tubuh ikan tiga kali sehari yaitu pada pukul 08.00, 11.00, dan 16.00.

Kultur isolat bakteri *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* yang digunakan merupakan hasil isolasi dari ikan lele yang terserang penyakit *A. hydrophila* di kabupaten serang, banten dan telah diuji secara biokimia. Bakteri diinokulasi dalam media agar (TSB) sebanyak 1 ose, kemudian diinkubasi pada suhu 27°C selama 24 jam. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung falcon steril, selanjutnya di lakukan proses sentrifugasi dan dibuang sisa media TSB, kemudian ditambahkan NaCl fisiologis steril.

Uji tantang

Ikan uji diinfeksi *A. hydrophila* (108 CFU/mL) pada hari ke-51 setelah diberi perlakuan selama 50 hari. Injeksi intramuskular digunakan untuk uji tantang. Gejala klinis dan kelangsungan hidup ikan dipantau sampai hari ke-12 setelah uji tantang

Parameter pengamatan

Sintasan

Sintasan merupakan perbandingan antara jumlah ikan lele yang bertahan hidup setelah uji tantang dengan ikan lele sebelum uji tantang. Setelah ikan diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*, pengamatan dilakukan sesuai Effendie (1997).

Pengamatan gambaran darah

De et al (2019) menyatakan bahwa perubahan hematologi pada darah perifer dapat

menunjukkan kondisi kesehatan ikan dan dapat digunakan sebagai indikator adanya infeksi dan kondisi stres pada ikan. Pengukuran parameter gambaran darah yaitu Jumlah eritrosit (SDM), Blaxhall dan Daisley (1973) Kadar Hemoglobin (Wedemeyer & Yasutake, 1977) Jumlah leukosit (SDP) (Nabib & Pasaribu 1989).

Gejala klinis

Gejala klinis yang diamati yaitu perubahan perilaku, perubahan morfologi permukaan dengan melihat adanya bercak merah (hyperamia), nekrosis, pendarahan (hemorrhagic), perut membuncit (dropsy), perubahan warna kulit ikan dan tingkah laku ikan. Pengamatan dilakukan selama 12 hari setelah ikan diuji tantang dengan *A. hydrophila*.

Analisis Data

Data kelangsungan hidup yang diperoleh, SDM, SDP dianalisis dengan (ANOVA) satu arah dengan interval kepercayaan 95%, kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan. Analisa gejala klinis dilakukan dengan deskriptif

Hasil dan Pembahasan

Setelah uji tantang, sintasan pada perlakuan pemberian probiotik kering rabal menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P<0.05$; Gambar 1) dibandingkan dengan perlakuan A (0%). Hal ini berarti bahwa pemberian rabal untuk mencegah kematian ikan lele akibat infeksi *A. hydrophila* lebih efektif. Perlakuan C (15%) memiliki sintasan terbaik dengan nilai $75.56 \pm 3.85\%$, yang berbeda secara statistik ($P<0.05$) dari perlakuan A(0%), B(5%), dan D (10%) dengan nilai berturut-turut sebesar $48.89 \pm 3.85\%$, $64.4 \pm 53.85\%$, dan $56.67 \pm 4.71\%$. Menurut Nayak (2010), probiotik mampu terhubung ke jaringan limfoid usus, meningkatkan sintesis sel T sebagai respon imun mukosa sehingga mempercepat stimulasi makrofag untuk mengidentifikasi keberadaan antigen dan mencegah perkembangan dan patogenisitas *A. hydrophila*. Hal ini dapat menghasilkan sintasan ikan lele yang lebih tinggi.

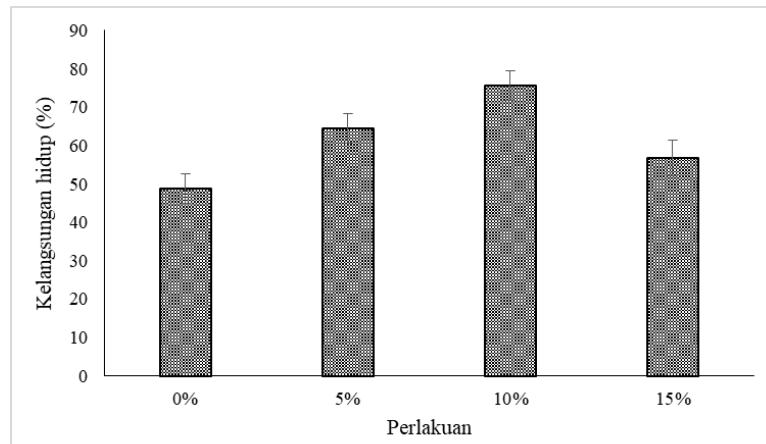
Selain itu, Probiotik rabal dalam bentuk kering menghasilkan viabilitas probiotik yang stabil sehingga dapat hidup dan membentuk koloni serta menjaga keseimbangan bakteri menguntungkan dalam saluran cerna ikan yang

ditunjukkan dengan tingginya sintasan. Hal ini sesuai dengan Decamp dan Moriarty (2007) bahwa probiotik bentuk kering dapat diberikan melalui pakan dan memiliki beberapa kelebihan seperti aplikasi lebih praktis dan umur simpan lebih lama. Ikan lele pada perlakuan B (5%) dan D (15%) tidak menunjukkan sintasan yang berbeda nyata ($P<0.05$). Menurut Nayak (2010), perbedaan dosis dapat mempengaruhi keberhasilan pemberian probiotik pada ikan. Dosis optimum dapat memberikan keuntungan pada ikan melalui peningkatan aktivitas imunomodulator yang optimal. Pemberian dosis probiotik yang terlalu tinggi menyebabkan ketidakseimbangan mikrobiota saluran cerna sehingga menurunkan respons imun ikan (Li et al. 2012). Sedangkan dosis yang terlalu rendah belum dapat menstimulasi respons imun ikan sehingga belum menunjukkan sintasan yang optimal setelah uji tantang.

Tabel 1 dan 2 menunjukkan bahwa pada hari ke-50 setelah pemberian, probiotik rabal kering dapat meningkatkan HR dan kadar hemoglobin darah. Perubahan SDM dalam darah setelah infeksi menunjukkan proses fisiologis tubuh dalam mengatasi patogen yang masuk karena SDM berperan dalam proses transfer oksigen dalam tubuh ikan. Probiotik membantu ikan dengan meningkatkan SDM dan mencegah kekurangan darah (anemia) yang disebabkan oleh infeksi. Hemoglobin merupakan metaloprotein yang mengandung zat besi dalam sel darah dan berfungsi sebagai pembawa oksigen dalam darah. Gugus apoprotein, globin, dan heme, molekul organik dengan satu atom besi, digolongkan dalam molekul hemoglobin.

Tabel 4. menunjukkan bahwa pemberian probiotik kering rabal selama 50 hari dapat meningkatkan jumlah leukosit ikan. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian probiotik kering rabal mampu menstimulasi kinerja sistem imun ikan yang ditunjukkan dengan peningkatan aktivitas fagositosis. Sel leukosit merupakan sel fagosit untuk mencegah bakteri yang tidak diinginkan dan menyebarkan faktor virulensi dalam tubuh ikan. Komponen leukosit sel yaitu monosit dan neutrofil melakukan fagositosis menelan bakteri patogen yang nilainya ditunjukkan dengan aktivitas fagositosis (Utami et al., 2015). Monosit dan neutrofil merupakan komponen sel darah yang menghasilkan anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2),

okksida nitrat (NO), peroksida nitrit (ONOO^-), Asam hipoklorit (HOCl), dan radikal hidroksil (OH^+) yang memiliki kemampuan membunuh bakteri patogen (Ellis, 2001).



Gambar 1. Kelangsungan hidup lele pascainfeksi dengan *A. hydrophila*

Tabel 1. Nilai SDM ikan lele selama penelitian ($\times 10^5$ sel/mm 3)

Perlakuan	Sebelum pemberian probiotik	Setelah pemberian probiotik	Setelah uji tantang
A (0%)	6.49±0.63	6.53±0.30 ^b	4.23±0.31 ^b
B(5%)	6.49±0.63	7.70±0.81 ^c	5.40±0.17 ^c
C(10%)	6.49±0.63	8.10±0.10 ^b	5.80±0.10 ^a
D(15%)	6.49±0.63	7.63±0.15 ^a	5.33±0.15 ^b

Tabel 2. Nilai hemoglobin ikan lele selama penelitian

Perlakuan	Sebelum pemberian probiotik	Setelah pemberian probiotik	Setelah uji tantang
A (0%)	8.43±0.69	9.03±0.12 ^a	7.20±0.10 ^a
B(5%)	8.43±0.69	9.53±0.06 ^{ab}	7.50±0.10 ^b
C(10%)	8.43±0.69	10.23±0.68 ^b	8.27±0.76 ^b
D(15%)	8.43±0.69	9.13±0.64 ^a	7.23±0.15 ^b

Tabel 3. Nilai leukosit ikan lele sebelum dan setelah pemberian probiotik kering rabal dan setelah uji tantang dengan *A. hydrophila* ($\times 10^5$ sel/mm 3)

Perlakuan	Sebelum pemberian probiotik	Setelah pemberian probiotik	Setelah uji tantang
A (0%)	1.23±0.18	1.79±0.08 ^b	0.79±0.05 ^a
B(5%)	1.23±0.18	2.15±0.1 ^c	1.11±0.1 ^b
C(10%)	1.23±0.18	2.23±0.04 ^c	1.18±0.02 ^b
D(15%)	1.23±0.18	1.97±0.01 ^a	0.87±0.06 ^a



Gambar 2. Gejala klinis ikan yang diinfeksi *A. hydrophila* (a:tukak,b:perut kembung (dropsy), c: sirip geripis, d: sirip merah).

Diantara parameter hematologi ikan yaitu SDM, SDP, dan hemoglobin. Pemberian probiotik kering dalam dosis berbeda selama 50 hari dapat meningkatkan parameter hematologi. Namun setelah dilakukan uji tantang terjadi penurunan eritrosit, hemoglobin dan leukosit. Jumlah SDM, SDP dan hemoglobin menurun setelah uji tantang. Penurunan ini disebabkan menurunnya produksi sel darah merah dari ginjal (Utami *et al.* 2015) serta lisis sel darah merah yang disebabkan oleh eksotoksin dan endotoksin *A. hydrophila* (Hardi *et al.* 2014). Namun, perlakuan A menunjukkan penurunan terbesar setelah infeksi *A. hydrophila*, menunjukkan bahwa ikan dalam perlakuan kontrol lebih banyak yang mengalami stres dibandingkan dengan pemberian probiotik rabal kering Hal ini menunjukkan bahwa suplementasi probiotik membantu ikan menahan serangan penyakit dengan mempertahankan homeostasis tubuh terhadap serangan infeksi patogen. Bakteri probiotik dapat mengaktifkan sistem imun ikan dengan cara berinteraksi dengan sel limfoid saluran cerna, yang sering dikenal dengan Gut Associated Lymphoid Tissue (GALT) (El-Bouhy *et al.*, 2013).

Ikan uji pada semua perlakuan pada hari ke-1 setelah penginfeksian belum menunjukkan adanya kerusakan tubuh atau gejala klinis lainnya. Hal ini disebabkan bakteri pada tahap

penempelan belum masuk ke dalam peredaran darah. Pada hari ke-2 ikan lele pada perlakuan A menunjukkan warna kulit yang lebih pucat serta mulai timbul bercak merah. Pada hari ke-3, kematian ikan lele ditemukan sehingga pencatatan kelangsungan hidup pasca infeksi mulai dilakukan. Hal ini berarti bakteri telah memasuki sistem sirkulasi darah ikan sehingga sistem kekebalan non spesifik ikan mulai mempertahankan tubuh ikan dari serangan bakteri. Menurut Pratama *et al.* (2017) munculnya warna merah pada permukaan tubuh ikan disebabkan oleh aktivitas enzim hemolisin dari bakteri *A. hydrophila* dengan tujuan memecah sel darah merah, sehingga keluar dari pembuluh darah dan menyebabkan perubahan warna menjadi kemerahan pada kulit. Pada hari ke-3 mulai timbul luka pada tubuh ikan dan pada hari ke-5 daging pada tubuh ikan yang luka tersebut mengelupas. Sedangkan pada perlakuan B dan C, hanya terdapat luka pada tubuh ikan dengan area yang lebih kecil. Sedangkan pada perlakuan perlakuan D (15%). Hal ini menunjukkan bahwa aplikasi probiotik rabal pada jumlah yang melebihi batas normal akan mengganggu keseimbangan mikroba dalam saluran cerna ikan sehingga menurunkan sistem imun yang ditunjukkan dengan adanya gejala klinis ikan akibat infeksi *A. hydrophila* (Francis

et al. 2002). Gejala klinis ikan uji setelah infeksi *A. hydrophila* tersaji pada Gambar 2.

Kesimpulan

Perlakuan pemberian probiotik kering rabal melalui pakan efektif memperbaiki respons imun melalui pengamatan gambaran darah (eritrosit, hemoglobin dan leukosit), serta meningkatkan kelangsungan hidup ikan lele dibanding Kontrol (A). Perlakuan probiotik rabal dosis 10% (C) menunjukkan hasil terbaik dengan tingkat kelangsungan hidup ikan lele pasca infeksi dengan *A. hydrophila* yaitu yaitu $75.56 \pm 3.85\%$.

Ucapan Terima kasih

Penulis berterima kasih kepada Fakultas Pertanian dan LPPM Universitas Sultan Ageng Tirtayasa melalui hibah penelitian PDP (Penelitian Dosen Pemula) tahun 2021 yang telah memberikan dana untuk menyelesaikan penelitian ini.

Referensi

- Balcazar, J.L., I. de Blas, I. Ruiz-Zarzuela, D. Cunningham, D. Vendrell, & J.L. Mu'quiz (2006). The Role of Probiotics in Aquaculture. Review. *Veterinary Microbiology*, 114: 173– 186.
- Blaxhall PC and Daisley KW. (1973). Routine Haematological Methods for Use with Fish Blood. *J Fish Biol.* 5: 577-581.
- Cruz PM, Ibanez L, Hermosillo OAM, Saad HC. (2012). Use of Probiotics in Aquaculture. *International Scholarly Research Network*, (1): 1-14.
- Dachi, A. L., Muhammadar, A. A., Sahidhir, I., Putra, D. F., & Irwan, Z. A. (2019). Effects Of Probiotics (Rabal) with Different Doses nn The Survival, Feed Conversion, and Growth of Giant Prawns (*Macrobrachium rosenbergii*). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 348(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/348/1/012083>.
- Decamp O, & Moriarty D. (2007). Aquaculture Species Profit from Probiotics. *Feed Mix*. 15: 20-23.
- Effendie, M. (1997). Biologi Perikanan. Yayasan Pustaka Nusatama. Yogyakarta .163 hlm.
- El-Bouhy ZM, El-Nobi GA, Hassanin ME, & El-Hady MA. (2013). Effects of Dietary Application of Two Antagonistic Gut-Isolated *Bacillus* Species on The Immune Response Of *Oreochromis niloticus* to *Aeromonas hydrophila* Infection. *Zagazig Veterinary Journal*, 41(2): 31-39.
- El-Bouhy, Z.M., El-Nobi, G.A., Hassanin, M.E., & El-Hady, M.A. (2013). Effects of Dietary Application of Two Antagonistic Gut-Isolated *Bacillus* Species nn The Immune Response of *Oreochromis niloticus* to *Aeromonas hydrophila* Infection. *Zag. Vet. J.*, 41(2), 31-39.
- El-Haroun ER. (2007). Improved Growth Rate and Feed Utilization in Farmed African Catfish *Clarias Gariepinus* (Burchell1822) Through a Growth Promoter Biogen Supplementation. *J. Fish. Aquat Sci.* 2(5):319-327.
- Francis G, Zohar K, Harinder PSN, & Klaus B. (2002). The Biological Action The Saponins in Animal System. *British Journal of nutrition*, 88(6): 587 – 605.
- Francis G, Zohar K, Harinder PSN, & Klaus B. (2002). The Biological Action The Saponins in Animal System. *British Journal of nutrition*, 88(6): 587 – 605.
- Hardi EH, Pebrianto CA, Hidayanti T, & Handayani, R. T. (2014). Infeksi Aeromonas Hydrophila melalui Jalur yang Berbeda pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Loa Kulu Kutai Kartanegara Kalimantan Timur. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 8(2): 130-133.
- Lestari, S. F., Yuniarti, S., & Abidin, Z. (2014). Pengaruh Formulasi Pakan Berbahan Baku. 6(1), 36–46.
- Li, XQ, Zhu YH, Zhang HF, Yue Y, Cai ZX, Lu QP, Zhang L, Weng XG, Zhang FJ, Zhou D, Yang JC, ... & Wang JF. (2012). Risks Associated with High-Dose *Lactobacillus rhamnosus* in an *Escherichia coli* model of piglet diarrhoea: Technical Paper of The US Departement of The Interior Fish and the Wildlife Service, 89: 1-17.
- Lukistyowati I, & Kurniasih (2011). Kelangsungan Hidup Ikan Mas *Cyprinus carpio* L. yang Diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih *Allium sativum* dan Diinfeksi

- Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan* 16: 144–160.
- Nabib R, & Pasaribu FH. (1989). Patologi dan Pe-nyakit Ikan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 158 hlm.
- Nayak SK. (2010). Probiotics and Immunity: a Fish Perspective. *Fish & Selfish Immunology*, 29(1): 2-14.
- Pratama RC, Rosidah, Sriati, & Rustikawati I. (2017). Efektivitas Ekstrak Biji Rambutan dalam Mengobati Benih Ikan Mas yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 8(1): 130-138.
- Sukenda, Jamal L, Wahjuningrum D, & Hasan A. (2008). Use of Chitosan to Prevent *Aeromonas hydrophila* Infection on Catfish Clarias sp. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 7: 159–169.
- Surianti, Muaddama, F., Wahyudi, & Firman, S. W. (2021). Pengaruh Konsentrasi Dedak Padi Terfermentasi Menggunakan *Lactobacillus* sp. dalam Pakan Buatan terhadap Kinerja Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim Ikan Nila, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Jurnal Ikhtiologi Indonesia*, 21(1), 11–22.
- Tuan TN, Duc PM, & Hatai K. (2013). Overview of the Use of Probiotics in Aquaculture. *Urpjournals*. 3(3): 89-97.
- Utami DAS, Widanarni, & Suprayudi MA. (2015). Administration of Microencapsulated Probiotic at Different Doses to Control streptococcosis in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Microbiologi Indonesia*, 9(1):17-24.
- Wedemeyer, G.A and Yasutake. (1977). Clinical Methods for The Assessment on The Effect of Environmental Stress on Fish Health. U.S. Fish and Wildlife Service. USA.