

## **PERTUMBUHAN BAKTERI PROBIOTIK *Alkaligenes* sp. DAN *Flavobacterium* sp. YANG DIISOLASI DARI USUS UDANG PADA MEDIA KULTUR MOLASE DAN KAOLIN**

*The Growth of Bacterial Probiotic, *Alkaligenes* sp. and *Flavobacterium* sp. Isolated the Intestine Gut of *Vannamei* Shrimp in the Molase and Kaoline Media*

Suminto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Budidaya Perairan  
Jurusan Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro  
Jl. Hayam Wuruk No. 4A Semarang

### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi tetes tebu (molase) dan tepung kaolin yang tepat untuk media kultur massal bakteri *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp. pada kondisi lingkungan (suhu, salinitas, dan pH) yang terbaik bagi pertumbuhan. Metoda yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimen dengan 3 (tiga) macam perlakuan dan masing-masing dilakukan pengulangan sebanyak 3 (tiga) kali. Perlakuan perbedaan konsentrasi molase yaitu M1 (16 gr/mL), M2 (32 gr/mL), dan M3 (48gr/mL). Sedangkan perlakuan perbedaan konsentrasi tepung kaolin adalah K1 (8 gr/mL), K2 (16 gr/mL), dan K2 (32 gr/mL). Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah kelimpahan bakteri yang diukur melalui Opical Density pada spektrofotometer. Analisa statistik uji varian, uji wilayah ganda duncan telah digunakan dalam analisa data penelitian ini untuk mengetahui pengaruh perbedaan berbagai kondisi lingkungan media kultur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan perbedaan konsentrasi molase berpengaruh sangat nyata ( $p<0,01$ ) terhadap pertumbuhan bakteri *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp. Pada perlakuan perbedaan konsentrasi tepung kaolin menunjukkan adanya pengaruh yang sangat nyata ( $P<0,01$ ) terhadap pertumbuhan bakteri *Alkaligenes* sp., tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Flavobacterium* sp.

**Kata Kunci :** Bakteri probiotik, pertumbuhan, jenis media, kondisi lingkungan

### **ABSTRACT**

*The aim of this research was to know the best concentration of molase and kaoline for culture media of *Alkaligenes* sp. and *Flavobacterium* sp. growths. There are also to know the best of those bacteria under environmental condition i.e. temperature, salinity, and pH. The research was used experiment method with three treatments and three replicates, respectively. Treatments of different molase concentration were M1 (16 gr/mL), M2 (32 gr/mL), and M3 (48gr/mL). While treatments of different kaolin concentration were K1 (8 gr/mL), K2 (16 gr/mL), dan K2 (32 gr/mL). Data were analyzed by variance Duncan's Multiple Range Tests. Results from the research showed that treatments of different molase concentration were highly significantly effected ( $P<0,01$ ) on the growth of *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp. bacterial. The treatments of different kaolin concentration had highly significantly effected ( $P<0,01$ ) on the *Alkaligenes* sp. bacteria but that was not affected to *Flavobacterium* sp. bacteria growth.*

**Keywords :** Probiotic bacteria, growth, media culture, environmental condition

### **PENDAHULUAN**

Budidaya udang windu, *Penaeus monodon* sudah mulai tergeser oleh adanya intruduksi udang putih, *Litopenaeus vannamei* yang sekarang sangat terkenal di kalangan petambak Indonesia. Hal ini karena udang windu sangat rentan terhadap serangan penyakit baik viral

maupun bacterial. Oleh karena itu, terjadi pergeseran pola budidaya yang dahulu menggunakan udang windu, sekarang banyak yang beralih ke udang putih. Udang vanname memiliki sejumlah keunggulan jika dibandingkan dengan udang windu yaitu lama budidaya yang relatif pendek (dua sampai tiga bulan), kelulushidupan yang tinggi (70%-90%)

dan pakannya tidak memerlukan kandungan protein yang tinggi (28%-32%) (Haliman dan Adijaya, 2004).

Penyakit bakterial yang sering menimbulkan kematian massal pada *post* larva udang adalah vibriosis, yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* sp. Pada pusat-pusat pembenihan, mortalitas larva udang lebih banyak disebabkan oleh kondisi lingkungan yang buruk seperti temperatur, salinitas, makanan, kepadatan yang tinggi, dan sarana pembuangan yang tidak memadai, sehingga larva menjadi lemah dan lebih mudah terkena penyakit yang disebabkan oleh bakteri (Haryanti *et al*, 1997).

Alternatif untuk menanggulangi penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen dapat melalui pendekatan biokontrol, yaitu penggunaan bakteri probiotik yang terdapat pada usus udang vanname (*Litopenaeus vannamei*). Penelitian sebelumnya telah dilakukan inventarisasi dan identifikasi sepuluh jenis bakteri yang berasal dari usus udang vaname yaitu *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Mycobacterium*, *Flavobacterium*, *Clostridium*, *Desulfovibrio*, *Alkaligenes*, dan *Vibrio* (Suminto, *et al.*, 2007). Dari bakteri tersebut diatas, terdapat empat bakteri yang berpotensi sebagai bakteri probiotik, yaitu *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Flavobacterium* sp., dan *Alkaligenes* sp. telah diujikan dan mempunyai kemampuan untuk mendegradasi lemak, protein dan karbohidrat (Suminto *et al.*, 2007). Kemudian dari kedua jenis bakteri itu yaitu *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp., tersebut telah diinventarisir untuk menentukan bakteri heterotrop yang berpotensi sebagai bakteri probiotik.

Sehubungan dengan itu, pada penelitian ini akan ditentukan optimasi jenis media kultur yaitu dengan bahan dasar molase dan kaolin untuk mendukung kultur massal kedua bakteri itu dengan menggunakan kondisi lingkungan media kultur bakteri yang optimal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi bahan Molase dan Kaolin yang tepat sebagai media kultur terhadap pertumbuhan bakteri probiotik *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp.

## METODE PENELITIAN

### Persiapan Media Bakteri

Molase digunakan untuk mengkultur bakteri karena kandungan bahan molase antara lain, karbohidrat, protein, dan glukosa yang

merupakan komponen dasar yang dibutuhkan mikroorganisme sebagai sumber energi. Demikian juga dengan bahan kaolin terdapat kandungan bahan-bahan nutrient seperti Natrium, Kalium, Kalsium dan Magnesium, yang merupakan mineral penting bagi mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang. Kedua bahan tersebut diharapkan dapat memenuhi kebutuhan metabolisme bakteri probiotik pada saat dikultur, sehingga bakteri dapat tumbuh optimal. Didukung juga dengan bahan media kultur berupa molase dan kaolin yang harganya relatif lebih ekonomis dan mudah didapatkan. Penelitian ini diharapkan akan memperoleh media kultur massal terbaik untuk pertumbuhan optimal bakteri *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp.

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini terlebih dahulu dikultur dalam media Nutrient Agar (NA) dengan kondisi lingkungan yang optimal yaitu suhu 30 °C, salinitas 30 ppt, dan pH 7,5. Untuk menumbuhkan bakteri pada bahan dasar molase dan kaolin, selanjutnya pada penelitian pendahuluan bakteri kemudian dikultur pada media yang baru yaitu molase dan kaolin dengan konsentrasi yang berbeda. Molase berasal dari tetes tebu sedangkan kaolin adalah bahan dasar formulasi tepung.

### Kultur Bakteri pada Media Molase dan Kaolin

Hasil terbaik pada kultur dengan menggunakan media NB (suhu 30 °C, salinitas 30 ppt, dan pH 7,5) diintroduksi ke dalam media Molase dan Kaolin dengan 3 perbedaan konsentrasi dan 3 kali ulangan. Konsentrasi Molase yang digunakan adalah M1 (16 gr/mL), M2 (32 gr/mL), M3 (48 gr/mL). Sedangkan konsentrasi Kaolin yang diberikan adalah K1 (8 gr/mL), K2 (16 gr/mL), dan K3 (32 gr/mL). Adapun berbagai perlakuan yang diberikan dapat dijelaskan sebagai berikut:

- M1 : Bakteri *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp dikultur dengan konsentrasi molase 16 gr/mL
- M2 : Bakteri *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp dikultur dengan konsentrasi molase 32 gr/mL
- M3 : Bakteri *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp dikultur dengan konsentrasi molase 48 gr/mL
- K1 : Bakteri *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp dikultur dengan konsentrasi molase 8 gr/mL
- K2 : Bakteri *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp dikultur dengan konsentrasi molase 16 gr/mL

K3 : Bakteri *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp dikultur dengan konsentrasi molase 32 gr/MI

**Pengumpulan dan Analisis Data**

Data yang dikumpulkan meliputi pola pertumbuhan bakteri *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp. pada media molase dan kaolin, serta data laju pertumbuhan bakteri *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp. pada media molase dan kaolin. Penghitungan laju pertumbuhan bakteri *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp. dilakukan pada waktu 24 – 48 jam pasca kultur bakteri. Tujuannya dilakukannya penghitungan adalah untuk mengetahui laju pertumbuhan bakteri probiotik pada berbagai media kultur, yang kemudian dimasukkan dalam spektrofotometer. Perhitungan kepadatan bakteri probiotik dihitung dengan menggunakan Optical Density.

Data yang dianalisis meliputi kepadatan bakteri probiotik *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp. pada media kultur massal dan media pemeliharaan lingkungan dianalisis dengan analisis ragam (ANNOVA), setelah itu data tersebut diujikan secara Normalitas, Homogenitas, dan Additifitasnya terlebih dahulu untuk memastikan apakah ragam tersebut bersifat normal, homogen, dan additif (Sudjana, 1992). Jika terdapat perbedaan yang nyata diantara perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan untuk mengetahui perbedaan nilai tengah rata-rata antar perlakuan dan perlakuan mana yang memberikan pengaruh terbaik (Srigandono, 1981).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

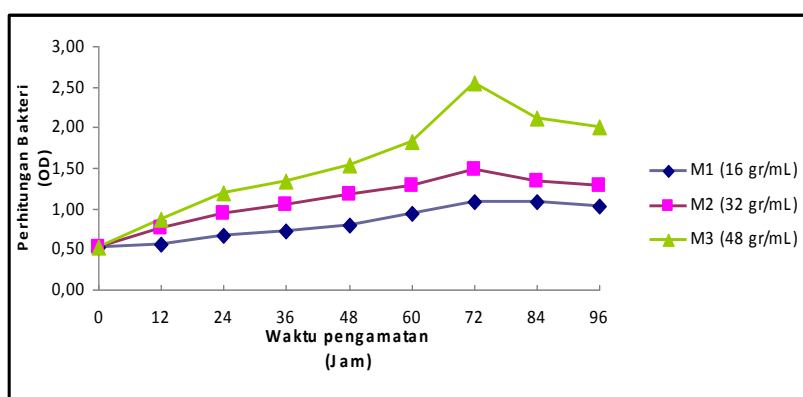
**Pertumbuhan Sel *Alkaligenes* sp. pada Media Molase**

Pola pertumbuhan Bakteri *Alkaligenes* sp. pada media tetes tebu (molase) selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 1. Ditunjukkan bahwa pertumbuhan sel *Alkaligenes* sp. yang terbaik adalah terjadi pada perlakuan M<sub>3</sub> (dosis 48 gr/mL).

Dari hasil analisa ragam dapat diketahui bahwa perlakuan memberikan perbedaaan yang sangat nyata (p<0.01) terhadap pertumbuhan bakteri (Tabel 1). Perlakuan terbaik adalah perlakuan dengan nilai waktu lag phase terkecil, dan dari hasil uji wilayah ganda Duncan (Tabel 2) adalah perlakuan M<sub>3</sub> (molase 48 gr/mL). Berdasarkan Tabel 3, dapat diketahui bahwa perlakuan M<sub>3</sub>-M<sub>2</sub> , M<sub>3</sub>-M<sub>1</sub> dan perlakuan M<sub>2</sub>-M<sub>1</sub> berbeda sangat nyata (p<0.01).

**Pertumbuhan Sel *Alkaligenes* sp. pada Media Kaolin**

Pola pertumbuhan Bakteri *Alkaligenes* sp. pada perlakuan media tepung kaolin dapat ditunjukkan pada Gambar 2. Pertumbuhan *Alkaligenes* sp. yang terbaik pada media ini adalah pada perlakuan K3 (konsentrasi kaolin 32 gr/mL). Dari hasil analisa ragam, F hitung lebih kecil dari F Tabel (0,01 dan 0,05) yang berarti perlakuan perbedaan konsentrasi kaolin tidak berpengaruh nyata (p>0.05) terhadap pertumbuhan bakteri *Alkaligenes* sp (Tabel 3).



Gambar 1. Pola Pertumbuhan *Alkaligenes* sp. pada Dosis Molase yang Berbeda

Tabel 1. Analisis Ragam Pertumbuhan Bakteri Sel *Alkaligenes* sp. pada Dosis Molase yang Berbeda

SK	DB	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2	3,407811	0,587628	150,5439	5,14	10,92
Error	6	0,052261	0,003903			
Total	8					

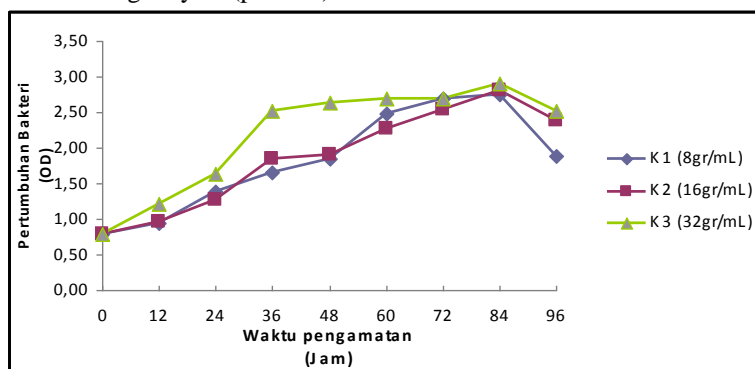
F hitung > F Tabel → Berpengaruh sangat nyata ( $p < 0.01$ )

Tabel 2. Uji Wilayah Ganda Duncan pada Perlakuan Perbedaan Komposisi Molase

Perlakuan	Nilai Tengah	Selisih		
M3	2,5399	M3		
M2	1,4861	1,0539**	M2	
M1	1,0798	1,4602**	0,4063**	M1

Keterangan : \* berbeda nyata ( $p < 0.05$ )

\*\* berbeda sangat nyata ( $p < 0.01$ )



Gambar 2. Pola Pertumbuhan *Alkaligenes* sp. pada Dosis Kaolin yang Berbeda

Tabel 3. Analisis Ragam Pertumbuhan Bakteri *Alkaligenes* sp. pada Dosis Kaolin yang Berbeda

SK	DB	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2	0,038808	0,019404	0,490724	5,14	10,92
Error	6	0,237249	0,039542			
Total	8	0,276057				

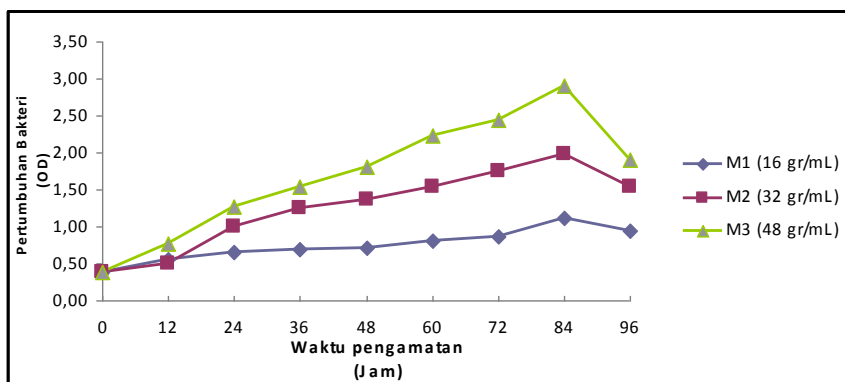
F hitung < F Tabel → Tidak berpengaruh nyata ( $p > 0.05$ )

### Pertumbuhan Sel *Flavobacterium* sp. pada Media Molase

Pola pertumbuhan Bakteri *Flavobacterium* sp. pada media tetes tebu (molase) selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 3. Pola pertumbuhan *Flavobacterium* sp. yang terbaik pada penelitian ini adalah pada perlakuan M<sub>3</sub> dengan konsentrasi molase sebesar 48 gr/mL. Dari hasil analisa ragam dapat diketahui bahwa perlakuan perbedaan konsentrasi molase berpengaruh sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Flavobacterium* sp. (Tabel 4). Perlakuan terbaik dari hasil uji wilayah ganda Duncan (Tabel 5)) adalah perlakuan M<sub>3</sub> (konsentrasi molase 48 gr/mL). Berdasarkan Tabel 5, dapat dilihat perlakuan M<sub>3</sub>-M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub>-M<sub>1</sub>, dan perlakuan M<sub>2</sub>-M<sub>1</sub> berbeda sangat nyata ( $p < 0.01$ ).

### Pertumbuhan Sel *Flavobacterium* sp. pada Media Tepung Kaolin

Pola pertumbuhan Bakteri *Flavobacterium* sp. pada perlakuan tepung kaolin selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 4. Pola pertumbuhan sel bakteri *Flavobacterium* sp. yang terbaik pada penelitian ini adalah pada perlakuan K<sub>3</sub> dengan konsentrasi 32 gr/mL. Data pertumbuhan bakteri *Flavobacterium* sp. dapat dilihat pada Tabel 9. Dari hasil analisa ragam F hitung lebih kecil dari F-tabel (0,01 dan 0,05) yang artinya perlakuan tidak memberikan pengaruh yang nyata ( $p > 0.05$ ) terhadap pertumbuhan sel bakteri *Flavobacterium* sp. (Tabel 6).



Gambar 3. Pola Pertumbuhan *Flavobacterium* sp. pada Perlakuan Perbedaan Komposisi Molase

Tabel 4. Analisis Ragam Pertumbuhan Bakteri *Flavobacterium* sp. pada Dosis Molase yang Berbeda

SK	DB	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2	5,06297	0,587628	150,5439	5,14	10,92
Error	6	0,067752	0,003903			
Total	8					

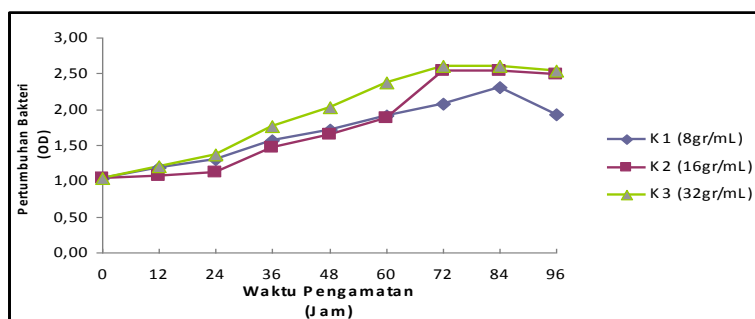
F hitung > F Tabel → Berpengaruh sangat nyata ( $p < 0.01$ )

Tabel 5. Uji Wilayah Ganda Duncan pada Perlakuan pada Dosis Molase yang Berbeda

Perlakuan	Nilai Tengah	Selisih		
M3	2,8997	M3		
M2	1,6198	1,2799**	M2	
M1	1,1183	1,7814**	0,5015**	M1

Keterangan : \* berbeda nyata ( $p < 0.05$ )

\*\* berbeda sangat nyata ( $p < 0.01$ )



Gambar 4. Pola Pertumbuhan *Flavobacterium* sp. pada Dosis Kaolin yang Berbeda

Tabel 6. Analisis Ragam Pertumbuhan Bakteri *Flavobacterium* sp. pada Dosis Kaolin yang Berbeda

SK	DB	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2	0,142811	0,071406	3,519976	5,14	10,92
Error	6	0,121715	0,020286			
Total	8	0,264526				

F hitung < F Tabel → Tidak berpengaruh nyata ( $p > 0.05$ )

**Pertumbuhan bakteri *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp. pada media molase**

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pada perlakuan perbedaan dosis molase berpengaruh sangat nyata terhadap pertumbuhan

bakteri *Alkaligenes* sp. Hal ini didukung oleh pernyataan Fardiaz (1987), bahwa molase banyak mengandung zat-zat organik seperti karbohidrat, protein, vitamin dan bahan organik lainnya yang dibutuhkan oleh bakteri untuk bermetabolisme. Hasil terbaik yang didapatkan

dari penelitian ini adalah perlakuan M<sub>3</sub> (konsentrasi molase sebanyak 48 gr/mL) dengan nilai tengahnya 2,5399. Pada perlakuan M<sub>2</sub> yaitu pada konsentrasi 48 gr/mL merupakan kondisi yang paling optimal untuk perkembangan bakteri *Alkaligenes* sp. Diduga bahwa kandungan molase sebagian besar adalah gula yang dapat dimanfaatkan sebagai energi untuk metabolisme sel bakteri. Jadi semakin tinggi konsentrasi molase yang digunakan dalam pembuatan media, maka akan semakin bagus untuk media hidup bakteri tersebut.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa pada perlakuan perbedaan konsentrasi molase berpengaruh sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Flavobacterium* sp. Hal ini disebabkan karena kandungan molase sebagian besar adalah gula, dan gula tersebut dimanfaatkan sebagai energi agar bakteri bermetabolisme. Hal ini didukung oleh pernyataan Fardiaz (1987), bahwa molase banyak mengandung zat-zat organik seperti karbohidrat, protein, vitamin dan bahan organik lainnya yang dibutuhkan bakteri untuk bermetabolisme. Hasil terbaik yang adalah perlakuan M<sub>3</sub> (konsentrasi molase 48 gr/mL) nilai tengahnya 2,8997. Pada perlakuan M<sub>2</sub> yaitu pada dosis 48 gr/mL merupakan kondisi yang paling optimal untuk perkembangan bakteri *Flavobacterium* sp. Jadi dengan semakin tinggi dosis molase yang diberikan, maka akan semakin bagus untuk media hidup bakteri tersebut.

#### **Pertumbuhan bakteri *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp. pada media kaoline**

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa pada perlakuan perbedaan dosis kaolin tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Alkaligenes* sp. Hasil terbaik adalah pada perlakuan K<sub>3</sub> (konsentrasi tepung kaolin sebesar 32 gr/mL) nilai tengahnya 2,8997. Pada perlakuan K<sub>3</sub> yaitu pada dosis 32 gr/mL merupakan kondisi yang paling optimal untuk perkembangan sel bakteri *Alkaligenes* sp. Hal ini didukung dengan pernyataan Belotto (1995), bahwa kandungan kaolin yang berupa Fe, Na, Mg, K dan Ca yang diperlukan dalam mikroalga dalam jumlah terbatas (*limiting factor*), sangat diperlukan bakteri sebagai nutrisi dasar untuk melakukan metabolisme. Hal tersebut berkaitan erat dengan hasil pada penelitian ini, yaitu hasil terbaiknya terdapat pada konsentrasi kaolin yang paling tinggi (32 gr/mL). Jadi semakin tinggi konsentrasi kaolin diharapkan mampu memenuhi kebutuhan bakteri untuk proses metabolisme.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pada perlakuan perbedaan dosis kaolin tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan *Flavobacterium* sp. Hasil terbaik adalah pada perlakuan K<sub>3</sub> (penggunaan tepung kaolin dengan konsentrasi sebesar 32 gr/mL) nilai tengahnya 2,5986. Pada perlakuan K<sub>3</sub> yaitu pada dosis 32 gr/mL merupakan kondisi yang paling optimal untuk perkembangan bakteri *Flavobacterium* sp. Hasil pada penelitian ini didukung dengan pernyataan Belotto (1995), bahwa kandungan kaolin yang berupa Fe, Na, Mg, K dan Ca, sangat diperlukan bakteri sebagai nutrisi dasar untuk melakukan metabolisme. Hal ini berkaitan erat dengan hasil pada penelitian ini, yang hasil terbaiknya terdapat pada konsentrasi yang paling tinggi. Oleh karena itu, semakin tinggi konsentrasi kaolin diharapkan mampu memenuhi kebutuhan bakteri untuk terus bermetabolisme.

#### **KESIMPULAN**

Perlakuan perbedaan konsentrasi molase ternyata berpengaruh sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap pertumbuhan bakteri *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp. Pada perlakuan perbedaan konsentrasi tepung kaolin menunjukkan adanya pengaruh yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap pertumbuhan bakteri *Alkaligenes* sp., tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Flavobacterium* sp.

#### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Diucapkan terima kasih kepada Satria Megantara, S.Pi., yang telah membantu mempersiapkan tabulasi data dalam penulisan ini. Terima kasih juga disampaikan kepada Kepala Laboratorium Budidaya Perairan dan Kepala Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro yang telah memfasilitasi penelitian ini dapat dilaksanakan. Lebih khusus terima kasih disampaikan kepada Proyek Hibah Bersaing lanjutan Lemlit Undip, dengan Surat Perjanjian No. 85a/J0.2/PG/2008.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

Adiwijaya, D., S. P. Raharjo, E. Sotikno, dan Subiyanto. 2003. Budidaya Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Sistem Tertutup yang Ramah Lingkungan. 29 pp.

- Barono, Adiwijaya. D, Maryam. M, Ranoemihardjo. B. 1986. Budidaya Udang. Direktorat Jendral Perikanan Bekerjasama dengan International Development Research Centre, Jakarta. Hlm 56-58.
- Bellotto, M., Gualtieri, A., Artioli, G., and Clark, S.M. (1995) Kinetic study of the kaolinite-mullite reaction sequence. Part I: kaolinite dehydroxylation', Phys. Chem. Minerals, Vol 22, 207-214
- Effendi, M.I. 1979. Metode Biologi Perikanan. Fakultas Perikanan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 112 hlm.
- Fardiaz, S. 1987. Fisiologi Fermentasi. Pusat Antar Universitas. IPB. Bogor
- Haliman, R,W. dan Adijaya, D.S. 2005. Udang Vannamei. PT. penebar Swadaya. Jakarta.
- Haryanti, S. Lante dan S. Tsumura. 1997. Studi Pendahuluan Penggunaan Bakteri Flavomonas BY-9 sebagai Probiotik dalam Pemeliharaan Larva Udang Windu (*Peneaus monodon*). JPPI. Vol 3 (1) : 44.
- Kabata, Z. 1985. Parasites and Disease of Fish Culture in Tropic. Taylor and Francis Ltd. London. 365 pp.
- Srigandono, B. 1990. Rancangan Percobaan. Fakultas Peternakan UNDIP, Semarang. Hlm. 96.
- Suminto, Samidjan. I, dan Sunaryo. 2007. Optimalisasi Paket Teknologi Budidaya Udang Vannamei (*Litopenaeus Vannamei*) Dengan Memanfaatkan Probiotik Dari Usus Udang Untuk Meningkatkan Kualitas Produksi. Lemlit UNDIP. Semarang
- Wyben, J and Sweeny. 1991. Intensive Shrimp Production Technology. Honolulu. Hawaii. 7-15 pp.