

SELEKSI PARSIAL PROBIOTIK UNTUK PERTUMBUHAN ABALON: ISOLASI SELEKTIF, RESISTENSI ANTIBIOTIK DAN PATOGENSITAS

Partial Selection of Probiotic for Abalone Growth: Selective Isolation, Antibiotic Resistance and Pathogenicity

Faturrahman

Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram
Jl. Majapahit 62, Mataram 83125, Nusa Tenggara Barat, Indonesia
e-mail: faturjr@gmail.com

Abstrak

Bakteri probiotik telah lama digunakan untuk perbaikan pertumbuhan organisme perairan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi bakteri kandidat probiotik yang berasosiasi dengan *Gracilaria* spp., mengevaluasi sifat resistensinya terhadap antibiotik dan derajat patogensitasnya. Resistensi diukur berdasarkan diameter zona bening yang terbentuk dan derajat patogenesis berdasarkan jumlah spat abalon yang mati. Hasil isolasi diperoleh 11 isolat bakteri agarolitik yang berasosiasi dengan *Gracilaria*, 6 isolat diperoleh dari pantai Kuta, 3 isolat dari tanjung An dan 2 isolat dari pantai Gerupuk. Isolat-isolat tersebut memiliki morfologi koloni dan sel yang beragam serta aktivitas agarolitik yang berbeda. Data hasil uji resistensi menunjukkan bahwa lebih dari 50% isolat (6 isolat) bersifat intermediet atau resisten terhadap antibiotik. Lima isolat yang peka yaitu Alg2.2, Alg3.1, Alg4.2, Alg5.1, dan Alg5.2 tidak bersifat pathogen ketika diuji tantang dengan spat abalon. uji tahap lanjutan perlu dilakukan untuk menilai potensi isolate tersebut menjadi kandidat probiotik.

Kata Kunci: probiotik, bakteri agarolitik, resistensi antibiotik, patogensitas

Abstract

Probiotic bacteria have long been used to improve the growth of aquatic organisms. The purpose of this study was to isolate candidate probiotic bacteria associated with *Gracilaria* spp., evaluate the degree of resistance to antibiotics and its pathogenicity. Resistance is measured by the diameter of clear zone formed and the degree of pathogenicity based on the number of dead abalone spat. Results obtained 11 isolates of agarolytic bacteria, 6 isolates obtained from Kuta beach, 3 isolates from the headland An and 2 isolates from Gerupuk beach. These isolates had colony and cell morphological characters as diverse and different agarolytic activities. Resistance test shows that more than 50% of isolates (6 isolates) are intermediate or resistant to antibiotics. Five isolates were sensitive, Alg2.2, Alg3.1, Alg4.2, Alg5.1, and Alg5.2, non-pathogenic when tested challenged with abalone spat. Advanced stages of testing needs to be done to assess the potential of a candidate probiotic

Keyword: probiotic, agarolytic bacteria, antibiotic resistance, pathogenicity

PENDAHULUAN

Salah satu kendala yang dihadapi pembudidaya abalon adalah laju pertumbuhannya yang lambat. Abalon yang mengkonsumsi rumput laut sebagai pakan tunggal menunjukkan laju pertumbuhan yang rendah karena defisiensi sejumlah nutrisi esensial (Doeschate dan Coyne 2008) seperti protein. Menurut Setyono (2008), abalon tropis dalam umumnya mengkonsumsi alga merah seperti *Gracilaria*, *Laurencia*, *Hypnea* dan

Amphiroa, sedangkan pada abalon budidaya diberikan pakan tunggal berupa *Gracilaria* sp.. *Gracilaria* memiliki kandungan protein yang rendah yaitu sekitar 3-7%, akan tetapi kaya akan agar-agar, hingga 47.34% (Soegiarto dan Sulistijo 1985).

Herbivora laut termasuk abalon umumnya memiliki enzim-enzim pendegradasi dinding sel komponen pakan didalam saluran pencernaannya (Gomez-Pinchetti dan Garcia-Reina, 1993) dan memiliki kemampuan untuk menggunakan agar-

agar, alginat, karagenan sebagai sumber energi (Erasmus *et al.* 1997). Disamping itu, dalam saluran pencernaan abalon juga ditemukan enzim-enzim polisakarase eksogen yang disumbangkan oleh bakteri enterik. Menurut Erasmus *et al.* (1997) kelompok bakteri enterik memainkan peranan penting bagi penyediaan nutrisi abalon dengan menghidrolisis kompleks polisakarida menjadi molekul sederhana yang dapat diserap oleh abalon. Lebih lanjut dijelaskan bahwa sebanyak 70-90% aktivitas bakteri polisakarolitik menghasilkan enzim-enzim polisakarase ekstraseluler yang disekresikan kedalam saluran pencernaan abalon (Erasmus *et al.* 1997). Katabolisme monosakarida oleh bakteri enterik menghasilkan sejumlah besar asam asetat dan format yang dapat digunakan sebagai sumber energi atau prekursor sintesis asam amino oleh abalon (Thompson *et al.* 2004).

Michel *et al.* (2006) dalam ulasannya menyebutkan bahwa beberapa kelompok bakteri laut menghasilkan enzim agarase ekstraseluler yang dapat mendegradasi agar-agar menjadi agarooligosakarida dan galaktosa. Dengan demikian, pendekatan yang dapat dilakukan untuk mempercepat laju pertumbuhan abalon *H. asinina* adalah dengan meningkatkan pencernaan agar-agar melalui introduksi bakteri probiotik yang dapat memproduksi enzim agarase.

Salah satu persyaratan suatu strain bakteri dapat digunakan sebagai probiotik adalah harus bersifat sensitif atau tidak resisten terhadap antibiotik umum yang digunakan pada hewan dan manusia. Pada penelitian ini telah dilakukan seleksi parsial bakteri kandidat probiotik sebagai penyedia enzim agarase ekstraseluler untuk abalon.

METODE

Pengambilan Sampel. Sampel *Gracilaria* spp. Diperoleh dari perairan Teluk Gerupuk, pantai Kuta dan Tanjung An Lombok Tengah dan disimpan dalam plastik. Semua sampel dimasukkan dalam *ice box* dan segera dibawa ke laboratorium untuk dikulturkan.

Isolasi Selektif Bakteri Agarolitik. Sebanyak 0.1 ml kultur sampel disebar pada medium *marine agar* (MA) dan *Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose* (TCBS), lalu diinkubasi pada 29 °C. Setelah 24 jam, koloni yang tumbuh diambil, dibuat replikanya dan dimurnikan dengan metode cawan gores. Selanjutnya isolat murni ditumbuhkan pada medium *marine broth* (MB)

selama 24 jam pada 29 °C. Sel dan supernatannya dipisah dengan cara disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 100 µL supernatan yang mengandung ekstrak kasar enzim yang dimasukkan ke dalam sumur pada media cawan agar (1.2% agar Merck), diinkubasi selama 4 jam dan diamati ada tidaknya zona bening setelah dituangi Lugol's iodine.

Pemeliharaan Isolat. Isolat bakteri agarolitik dipelihara dalam larutan Dubos' yang mengandung (gr/L) : NaNO₃, 0.5; K₂HPO₄, 0.1; MgSO₄·7H₂O, 0.5; dan FeSO₄·7H₂O, 0.01, agar 0.2%; dituang dalam botol Bijou dan sebelum diotoklaf, pH disesuaikan menjadi 7.2.

Resistensi Antibiotik. Isolat bakteri agarolitik diuji resistensinya terhadap 4 jenis antibiotik mewakili kategori agen anti mikroba yang umumnya digunakan pada hewan dan manusia. Antibiotik yang digunakan dalam penelitian ini meliputi Vancomycin, erythromycin, tetracyclin dan rifampicin. Resistensi antibiotik dihitung berdasarkan ukuran zona hambatan yang terbentuk menggunakan metode cakram (*paper disk*). Interpretasi zona hambatan untuk resistensi, intermediat dan rentan ditentukan berdasarkan Johnson and Case (2007). Isolat yang memiliki profil resistensi terhadap ke-4 antibiotik dieliminasi sebagai kandidat CE.

Standard tingkat resistensi dan kerentanan isolat bakteri terhadap antibiotik menggunakan standard yang dikeluarkan oleh National Commitee for Clinical Standard, USA, dalam Johnson dan Case (2007), ditampilkan pada Tabel 1.

Uji Patogenisitas Isolat Kandidat Probiotik (Cai *et al.* 2006). Uji ini dilakukan terhadap spat abalon umur 60 hari (ukuran 0.5-0.7 cm) dan *Gracilaria* sp. yang diperoleh dari Balai Budidaya Laut Lombok NTB. Mula-mula isolat kandidat probiotik diprakultur pada medium SWM broth pada 29 °C selama 24 jam. Kemudian dibuat serial pengenceran 10⁵, 10⁶, dan 10⁷ CFU/ml menggunakan larutan fisiologis. Sebelum digunakan benih abalon yang masih melekat pada substratnya direndam dalam larutan antibiotik (rifampisin 50 µg/ml, tetrasiklin 10 µg/ml, kloramfenikol 20 µg/ml). Selanjutnya kedalam 1000 ml air laut steril dalam stoples yang berisi 10 ekor benih ditambahkan masing masing serial pengenceran isolat kandidat probiotik dan satu kontrol tanpa probiotik (K0 = Kontrol, K1= 10⁵ cfu/ml, K2= 10⁶ cfu/ml, dan K3= 10⁷ cfu/ml). Tiap-tiap perlakuan diulang 3 kali. Pengamatan terhadap mortalitas dilakukan tiap hari selama 6 hari.

Tabel 1. Interpretasi zona hambat dari kultur uji

Disk symbol	Antimicrobial agent	Disk Content	Diameter of zona of inhibition (mm)		
			Resistant	Intermediate	Susceptible
Va	Vancomycin	30 µg	<9	10-11	>12
E	Erythromycin	15 µg	<13	14-22	>23
R	Rifampisin	5 µg	<16	17-19	>20
Te	Tetracyclin	30 µg	<14	15-18	>19

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Agarolitik

Hasil isolasi diperoleh 11 isolat bakteri yang berasosiasi dengan *Gracilaria*, 6 isolat diperoleh dari pantai Kuta, 3 isolat dari tanjung

An dan 2 isolat dari pantai Gerupuk. Isolat-isolat tersebut memiliki karakter morfologi koloni dan sel yang beragam. Terdapat 9 isolat (82%) berbentuk batang dan sisanya kokus, warna koloni umumnya putih-krem atau kuning kecoklatan (Tabel 2).

Tabel 2. Isolat bakteri agarolitik yang berasosiasi *Gracilaria* spp. asal pantai Gerupuk, Pantai Kuta dan Tanjung An

No	Kode	Asal isolate	Karakter morfologi koloni dan sel
1	Alg1.1	Pantai Gerupuk	Kokus, putih, licin, bulat, dan kecil
2	Alg1.3	Pantai Gerupuk	Batang pendek, krem, licin, bulat, motil
3	Alg2.1	Pantai Kuta	Batang, kuning kecoklatan, irregular
4	Alg2.2	Pantai Kuta	Batang, pink, permukaan licin, bulat
5	Alg3.1	Pantai Kuta	Batang pendek, koloni krem, bulat, licin, motil
6	Alg4.1	Tanjung An	Batang, kuning kecoklatan, motil
7	Alg4.2	Tanjung An	Batang, krem, koloni bulat, motil
8	Alg5.1	Pantai Kuta	Batang panjang, menghasilkan H ₂ S, putih susu
9	Alg5.2	Pantai Kuta	Kokus, krem, ireguler, non motil
10	Alg5.3	Pantai Kuta	Batang, putih, permukaan kasar, non motil
11	Alg6.3	Tanjung An	Batang, kuning kecoklatan, irregular

Hasil verifikasi aktivitas agarolitik dari kesebelas isolat bakteri setelah dideteksi dengan indikator Lugol's iodine menunjukkan bahwa semua

isolat mampu membentuk zona terang kekuningan disekitar latar gelap coklat (Gambar 1A dan 1B).



A



B

Gambar 1. (A) Koloni bakteri agarolitik menyebar tipis pada permukaan medium A dengan 1.8% agar, (B) zona bening yang terbentuk dari supernatan yang diproduksi pada kultur cair MB umur 24 jam.

Koloni isolat bakteri agarolitik pada medium A agar ada yang bersifat mengumpul dan ada koloni yang menyebar tipis di permukaan agar-agar. Mengumpul atau menyebarnya koloni bakteri di permukaan agar-agar berhubungan dengan motilitas isolat. Isolat yang motil cenderung

menyebar dipermukaan agar karena terbentuknya cairan pada permukaan agar-agar sebagai hasil dari likuifikasi agar-agar. Kemampuan tiap isolat agarolitik membentuk zona bening pada media agar berbeda-beda (Tabel 3).

Tabel 3. Ukuran diameter zona bening isolat bakteri agarolitik

No	Isolat	Diameter koloni + zona bening (mm)	Diameter zona bening supernatan (mm)
1	Alg1.1	14.00	17
2	Alg1.3	19.33	24
3	Alg2.1	23.33	19
4	Alg2.2	33.33	36.5
5	Alg3.1	54.33	42.5
6	Alg4.1	19.33	24
7	Alg4.2	60.67	49.5
8	Alg5.1	24.67	22
9	Alg5.2	31.33	36
10	Alg5.3	21.67	20.5
11	Alg6.3	23.33	22

Kesebelas isolat menampilkan aktivitas agarolitik yang berbeda-beda berdasarkan ukuran diameter zona bening yang dibentuk, paling kecil dicapai oleh isolat Alg1.1. dan paling besar dihasilkan Alg4.2. Tabel 3 juga memperlihatkan bahwa aktivitas agarolitik, baik itu menggunakan supernatan maupun kultur sel secara konsisten menunjukkan ukuran diameter zona bening yang hampir sama. Sebanyak 6 isolat menunjukkan derajat agarolitik yang tinggi dengan ukuran diameter zona bening lebih dari 30 mm yaitu Ail1.1, Abn1.1, Alg3.1, Alg4.2, Alg2.2 dan Alg5.2. Perbedaan ukuran diameter zona bening ini kemungkinan disebabkan oleh kemampuan isolat dalam memproduksi enzim agarase, kelengkapan jenis enzim agarase yang dihasilkan dan juga oleh ukuran molekul enzim agarase yang berbeda-beda. Vera *et al.* (1998) membagi bakteri agarolitik kedalam 3 kelompok berdasarkan ukuran berat molekul enzim dan hubungannya dengan aktivitas degradasi gel agar-agar. Kelompok I dengan berat molekul 30-35 kDa, terdiri dari *Pseudoalteromonas atlantica* ATCC 19291, *P. antartica* N-1, *Streptomyces coelicolor* dan *Pseudomonas* sp. galur PT-5; kelompok II dengan berat molekul 50-59 kDa, terdiri dari *Alteromonas* sp. galur C-1, *Pseudomonas* sp. galur W-7 dan *P. atlantica* t6c; dan kelompok III dengan berat molekul lebih dari 100 kDa yang terdiri atas spesies-spesies *Vibrio* dengan kemampuan

degradasi gel agar-agar yang relatif rendah. Kelompok I dan II dikenal memiliki kemampuan yang tinggi dalam melunakkan dan mendangkalkan agar-agar karena memiliki berat molekul agarase rendah yang dapat berdifusi melalui pori-pori gel agar-agar. Perkecualian pada *Alteromonas* sp. galur C-1 yang dapat mencairkan agar-agar karena mampu menghasilkan enzim agarase dalam konsentrasi yang tinggi.

Resistensi Terhadap Antibiotik

Saat ini, salah satu persyaratan suatu isolat bakteri dapat digunakan sebagai probiotik adalah tidak menunjukkan resistensi terhadap satu atau lebih antibiotik yang umum digunakan pada manusia dan hewan. Prosedur uji dan standar resistensi antibiotik didasarkan pada Johnson and Case (2007). Uji resistensi isolat dilakukan terhadap 4 jenis antibiotik, yaitu tetrasiklin, rifamisin, ampicilin, dan vancomisin (Tabel 4). Isolat-isolat yang menunjukkan resistensi atau intermediet langsung dieliminasi sebagai kandidat probiotik dan tidak diuji lagi terhadap antibiotik yang lain, sementara isolate-isolat yang peka diuji terhadap antibiotik yang lainnya.

Rekapitulasi dan interpretasi data resistensi isolat terhadap antibiotik tetrasiklin, rifamisin, ampicilin dan vancomisin disajikan pada Tabel 5.

Tabel 4. Data uji resistensi isolat terhadap antibiotik tetrasiklin, rifamisin, ampicilin dan vankomisin

No	Kode isolate	Zona hambatan (mm)			
		Tetrasiklin	Rifamisin	Ampisilin	Vankomisin
1	Alg1-2	13.00	-	-	-
2	Alg1-3	16.25	-	-	-
3	Alg2-1	16.50	-	-	-
4	Alg2-2	29.50	22.50	18.25	16.25
5	Alg3-1	27.00	26.25	34.00	14.00
6	Alg4-1	27.50	18.75	19.50	22.50
7	Alg4-2	30.75	21.75	20.50	15.25
8	Alg5-1	32.50	25.50	24.50	19.75
9	Alg5-2	34.00	21.25	18.25	16.25
10	Alg5-3	31.00	16.50	-	-
11	Alg6-3	15.50	-	-	-

* standar resistensi tetrasiklin (10 µg): <14 mm resisten, 15-18 mm intermediet, >19 peka; rifamisin (5 µg): <16 mm resisten, 17-19 mm intermediet, >20 peka; ampicilin (10 µg), G+: <28 mm resisten, - mm intermediet, >29 peka, G- : <13 mm resisten, 14-16 mm intermediet, >17 peka; vankomisin (30 µg), <9 mm resisten, 10-11 mm intermediet, >12 peka

* tanda (-) : isolat tidak diuji karena bersifat resisten

Tabel 5. Interpretasi resistensi isolat terhadap 4 jenis antibiotik

No	Isolat	Sifat Resistensi			
		Tetrasiklin	Rifamisin	Ampisilin	Vancomisin
1	Alg1-2	Resisten	-	-	-
2	Alg1-3	Intermediet	-	-	-
3	Alg2-1	Intermediet	-	-	-
4	Alg2-2	Peka	Peka	Peka	Peka
5	Alg3-1	Peka	Peka	Peka	Peka
6	Alg4-1	Peka	Intermediet	-	-
7	Alg4-2	Peka	Peka	Peka	Peka
8	Alg5-1	Peka	Peka	Peka	Peka
9	Alg5-2	Peka	Peka	Peka	Peka
10	Alg5-3	Peka	Resisten	-	-
11	Alg6-3	Intermediet	-	-	-

Data hasil penelitian menunjukkan bahwa lebih dari 50% isolat (6 isolat) bersifat intermediet atau resisten terhadap antibiotik. Sebanyak 4 isolat, yaitu Alg1.2, Alg1.3, Alg2.1 dan Alg6.3 menunjukkan kecenderungan resisten terhadap antibiotik tetrasiklin dan 2 isolat yaitu Alg4.1 dan Alg5.3 cenderung resisten terhadap rifamisin, sehingga harus dieliminasi sebagai kandidat probiotik.

Tetrasiklin bekerja menghambat sintesis protein, sedangkan rifamisin merupakan inhibitor RNA polimerase sehingga menghambat laju transkripsi. Banyaknya isolate yang resisten terhadap kedua antibiotik ini kemungkinan disebabkan oleh kemampuan bakteri untuk melipatgandakan jumlah produksi mRNA dan proteinnya, sehingga bakteri mampu bertahan

hidup meskipun diberi antibiotik tetrasiklin dan rifamisin.

Hasil uji lanjutan isolat yang peka (Alg2.2, Alg3.1, Alg4.2, Alg5.1, dan Alg5.2) terhadap antibiotik ampicilin dan vankomisin menunjukkan bahwa kelima isolat tidak bersifat resisten terhadap kedua antibiotik. Ampisilin dan Vancomisin merupakan antibiotic yang bekerja menghambat sintesis dinding sel. Ampisilin termasuk turunan β -laktam yang mekanisme kerjanya merusak sintesis peptidoglikan. Oleh karena itu terdapat perbedaan standar ukuran resistensi antara Gram positif dengan Gram negatif yang disebabkan oleh adanya perbedaan struktur dinding sel keduanya.

Terhadap isolat yang bersifat resisten secara langsung dieliminasi sebagai kandidat *competitive exclusion*. Eliminasi terhadap ke-7

isolat tersebut karena diketahui bahwa bakteri dapat mengembangkan resistensi terhadap agen antimikrobal, hal ini dapat menjadi ancaman bagi kesehatan manusia. Kemunculan bakteri resisten dapat menjadi salah satu petunjuk penting dari tersebarluasnya resistensi antibiotik dari patogen oportunistik, dimana bakteri resisten tersebut dapat meningkatkan potensi ancaman melalui transfer gen resistensi kepada patogen manusia melewati saluran gastrointestinal atau lingkungan. Oleh sebab, itu haruslah dipertimbangkan pentingnya seleksi bakteri yang akan digunakan sebagai

probiotik, dimana bakteri tersebut tidak menunjukkan resistensi terhadap antibiotik standar yang dipergunakan oleh manusia dan hewan (Brashear *et al.* 2003).

Patogenisitas Isolat Kandidat Probiotik

Sebelum dinyatakan sebagai kandidat probiotik, ketiga isolat diuji patogenisitasnya terhadap spat atau fase juvenil awal abalon. Perlakuan dalam uji patogenisitas terhadap abalon dilakukan dengan berbagai level konsentrasi sel isolat bakteri agarolitik.

Tabel 6. Rataan mortalitas spat abalon (ukuran 0.5-0.7 cm) yang diberi isolat bakteri agarolitik pada konsentrasi berbeda selama 6 hari pengamatan

Konsentrasi inokulum (cfu/mL)	Mortalitas (%)				
	Alg2.2	Alg3.1	Alg4.2	Alg5.1	Alg5.2
0	0	1.65	0	1.65	0
10 ⁵	0	0	0	3.33	0
10 ⁶	0	1.65	0	0	0
10 ⁷	3.33	0	1.65	0	0

Hasil penelitian pada Tabel 6 menunjukkan bahwa semua isolat bakteri agarolitik kandidat probiotik yang diuji tidak bersifat patogen terhadap spat. Hal ini dapat terlihat rata-rata mortalitas spat abalon yang rendah (berkisar 0-3.33%). Kematian yang terjadi pada spat baik pada kontrol maupun perlakuan lebih disebabkan oleh kekuranghatian pada saat pemindahan spat dari *feeder plate* (substrat tempat spat abalon menempel) pada bak pemeliharaan larva ke wadah uji. Cai *et al.* (2006) menggunakan konsentrasi 10³-10⁶ cfu/ml untuk menguji patogenisitas *V. haemolyticus* terhadap juvenil abalon. Suatu galur bakteri disebut patogen atau virulen bila memiliki LD50 pada 10⁴-10⁵ cfu/ml, dan suatu galur bakteri dipertimbangkan tidak virulen bila memiliki LD50 pada >10⁸ cfu/ml. Selanjutnya ketiga isolat diuji patogenisitasnya terhadap *Gracilaria* sp.

Data ini menunjukkan bahwa ketiga isolat aman digunakan sebagai kandidat probiotik abalon. Selama ini eksplorasi bakteri kandidat probiotik akuakultur lebih ditujukan pada bakteri asam laktat yang telah dikenal luas aman bagi manusia, seperti *Lactobacillus* sp., *Carnobacterium* sp., dan *Bifidobacterium* sp. (Gatesoupe 2008; Suzer *et al.* 2008). Namun demikian, golongan bakteri ini bukan merupakan mikrobiota normal pada moluska sehingga jarang ditemukan pada saluran

pencernaannya, akibatnya seleksi probiotik lebih diarahkan pada bakteri yang dominan pada saluran pencernaan moluska seperti *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Aeromonas* dan *Bacillus* (Zhou *et al.* 2012; Prado *et al.* 2010; Tanaka *et al.* 2002).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa dari 11 isolat bakteri agarolitik berasosiasi *Gracilaria* spp. hanya 5 isolat, Alg2.2, Alg3.1, Alg4.2, Alg5.1, dan Alg5.2, yang bersifat sensitif terhadap antibiotik tetrasiklin, rifamisin, ampisilin dan vankomisin. Kelima isolate tidak bersifat patogen terhadap abalon. Perlu dilakukan seleksi lanjutan untuk menilai potensi isolate tersebut sebagai kandidat probiotik akuakultur.

DAFTAR PUSTAKA

- Brashear M.M., D. Jaroni, and J. Trimble, 2003. Isolation, selection and characterization of Lactic Acid bacteria as Competitive exclusion product to reduced *Escherichia coli* 0157:H7 in cattle. *J Food Protec* 66: 355-363.
- Cai J, Han Y, Wang Z. 2006. Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from abalone (*Haliotis diversicolor supertexta* L.) postlarvae

- associated with mass mortalities. *Aquaculture* 257: 161-166.
- Doeschate KI, Coyne VE. 2008. Improved growth rate in farmed *Haliotis midae* through probiotic treatment. *Aquaculture* 284:174-179.
- Erasmus JH, Cook PA, Coyne VE. 1997. The role of bacteria in the digestion of seaweed by the abalone *Haliotis midae*. *Aquaculture* 155: 377-386.
- Gatesoupe FJ. 2008. Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: natural occurrence and probiotic treatments. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 14: 107-114.
- Gomez-Pinchetti JL, Garcia-Reina G. 1993. Enzymes from marine phycophages that degrade cell walls of seaweeds. *Mar Biol* 4: 553-558.
- Johnson TR, Case CL. 2007. *Laboratory experiment in microbiology*. Singapore. Pearson Benjamin Cummings.
- Michel G, Nyval-Collen P, Barbeyron T, Czjzek M, Helbert W. 2006. Bioconversion of red seaweed galactans: a focus on bacterial agarases and carrageenases. *J Appl Microbiol Technol* 71:23-33.
- Prado S, Romalde JL, Barja JL. 2010. Review of probiotics for use in bivalve hatcheries. *Vet Microbiol* 145:187-197.
- Setyono DED. 2008. Biologi dan ekologi abalon. *Oceana* 33:1-13.
- Soegiarto A, Sulistijo, 1985. The potential of marine algae for biotechnology products in Indonesia. Di dalam : *Workshop on marine algae biotechnology*; Jakarta, Desember 11-13, 1985.
- Suzer C. 2008. *Bacillus* spp. bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.,) larvae: Effects on growth performance and digestive enzyme activities. *Aquaculture* 280:140-145.
- Tanaka R., T. Sawabe, M. Yoshimizu, and Y. Ezure, 2002. Distribution of *Vibrio halioticoli* around an Abalone-farming Center in Japan. *Microbes and Environments*. 17(1):6-9.
- Thompson F.L, Ida T, and Swings J., 2004. Biodiversitas of *Vibrio* s. *Microbiol and Mol Biol Rev.* 68(3): 403-431.
- Vera J, Alvares R, Murano E, Slebe JC, Leon O. 1998. Identification of a marine agarolytic *Pseudoalteromonas* isolate and characterization of its extracellular agarase. *J Appl Environ Microbiol* 64: 4374-4383.
- Verschuere, L., Rombout G., Sorgeloos P., and Verstraete W., 1997. Probiotic Bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiol and Mol Biol Rev.* 64(4): 655-671.
- Zhao J, Shi B, Jiang QR, Ke CH. 2012. Changes in gut-associated flora and bacterial digestive enzymes during the development stages of abalone (*Haliotis diversicolor*). *Aquaculture* xxx: xxx-xxx (article In Press).