

MOLECULAR IDENTIFICATION AND LOCAL ISOLATE BACTERIAL ACTIVITY TEST AS BIOCONTROL CANDIDATES TO TACKLE *Vibrio* Spp INFECTIONS AT VANNAMEI SHRIMP CULTIVATION (*Litopenaeus vannamei*) IN EAST LAMPUNG

Heidy Riana^{*1}, Supono¹, Agus Setyawan²

ABSTRACT

Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei) is a widely cultivated type of shrimp with high economic value. One of the obstacles in pacific white shrimp cultivation is an infectious disease, especially Vibrio spp. This study aims to identify bacteria of biocontrol candidate against Vibrio spp. This research was conducted by the Laboratory of Fisheries and Marine, Faculty of Agriculture, University of Lampung and the laboratory of PT. Indolab Utama, West Jakarta, from September 2019 to January 2020. Bacteria of Biocontrol candidate were isolated from traditional shrimp pond water in Purworejo Village, Pasir Sakti District, East Lampung Regency. Water samples were taken from the inlet, plot, and outlet. The bacterial screening was carried out by testing the antagonism of bacterial isolates isolated from water samples with several Vibrio bacteria, namely V. harveyi, V. alginolyticus, and V. parahaemolyticus on Sea Water Complete (SWC) medium. The bacterial isolates with the highest inhibitory activity were then identified morphologically, biochemically, and molecularly by 16s rRNA. The results showed that from those 10 isolates was found 1 bacterial isolate from water samples. Only one pond plot isolate (P1) was found that had inhibitory activity against V. harveyi and the size was 21 mm. The morphological test results showed the colonies were round, flat edges, convex elevation, cream colored, and included in the negative gram bacteria group. The results of biochemical tests showed that the bacteria were motile. Meanwhile, the molecular test results with 16s rRNA showed that the P1 bacteria were 99% similar to Aeromonas caviae isolates, which were found potential as biocontrol candidates because they can inhibit the growth of V. harveyi bacteria, which was characterized by the formation of a clear zone around the paper disk.

Keywords: *Biocontrol, Identification, Pacific White Shrimp, Vibrio*

Pendahuluan

Udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu jenis udang yang banyak dibudidayakan di

Indonesia karena memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi. Secara ekonomi udang memberikan kontribusi terhadap nilai ekspor hasil produksi perikanan di Indonesia

* E-mail: heidyriana@gmail.com

¹ Magister Manajemen Wilayah Pesisir, Sekolah Pascasarjana, Universitas Lampung

² Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung

Jl. Prof. Soemantri Brodjonegoro No. 1 Gedong Meneng Bandar Lampung 35145

sebesar 33,63%. Salah satu cara untuk meningkatkan nilai produksi udang vannamei yaitu dengan cara meningkatkan padat tebar atau dengan sistem budidaya intensif. Akan tetapi sistem budidaya intensif pada udang vannamei kemungkinan akan menimbulkan suatu penyakit yang membuat kelangsungan hidup dan pertumbuhan udang menurun.

Timbulnya suatu penyakit udang di tambak disebabkan oleh berbagai faktor, salah satunya penurunan kualitas air yang diikuti oleh kesehatan udang yang memburuk. Penyakit yang sering menyerang udang diantaranya virus, jamur, parasit dan bakteri. Dari beberapa penyebab penyakit dari genus *Vibrio* merupakan salah satu penyebab penyakit yang banyak menyerang larva udang vannamei adalah penyakit vibriosis yang disebabkan oleh bakteri *V. harveyi*.

Usaha untuk menanggulangi penyakit tersebut telah dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis antibiotik. Namun penggunaan antibiotik secara terus-menerus dengan dosis sub-optimal telah mengakibatkan *V. harveyi* menjadi resisten.

Untuk itu, saat ini telah banyak dikembangkan cara lain yang diharapkan lebih aman dan efektif salah satunya adalah dengan penggunaan bakteri probiotik sebagai agen biokontrol. Pemanfaatan bakteri biokontrol indigenous sebagai kandidat probiotik pada budidaya udang vannamei memerlukan beberapa spesies bakteri yang saling mendukung satu dengan yang lain. Sejauh ini, bakteri biokontrol indigenous dari tambak udang di Lampung masih terbatas pada

Bacillus sp. D.22 yang memiliki aktivitas antagonis terhadap beberapa bakteri pathogen pada ikan dan udang seperti *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio alginolyticus*.

Oleh karena itu, penting untuk mengeksplorasi kembali beberapa kandidat bakteri biokontrol untuk mendukung pengembangan probiotik khusus bakteri indigenous di Lampung. Penelitian ini akan difokuskan melakukan penapisan (*skrining*) bakteri biokontrol yang memiliki sifat antagonis terhadap *Vibrio* spp. serta identifikasi secara molekuler pada bakteri dengan bioaktivitas paling tinggi.

Metode

Penelitian ini dilaksanakan bulan September 2019 sampai dengan bulan Januari 2020 yang bertempat di Laboratorium Perikanan dan Kelautan Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Uji Biokimia dan Uji PCR 16s rDNA kandidat bakteri biokontrol dilakukan di Laboratorium PT. Indolab Utama, Jakarta Barat.

Sampel air dikoleksi dari tambak tradisional udang vannamei di Desa Purworejo, Kecamatan Pasir Sakti, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung. Sampel diambil dari titik *inlet*, *outlet*, dan petak tambak masing-masing sebanyak 50ml.

Metode yang dilakukan antara lain isolasi bakteri kandidat biokontrol, penapisan (*Skrining*) aktivitas antibakteri, identifikasi bakteri kandidat biokontrol terdiri dari identifikasi morfologi, identifikasi biokimia dan identifikasi

molekuler 16s rDNA. Data dianalisis secara deskriptif.

Hasil

Isolasi Bakteri Kandidat Biokontrol

Isolat kandidat bakteri biokontrol yang didapat dari hasil penelitian ini sebanyak 10 isolat yang

berasal dari sampel air tambak budidaya udang vannamei di desa Purworejo, Kecamatan Pasir Sakti, Kabupaten Lampung Timur. Perbedaan letak pengambilan sampel air menunjukkan penampilan koloni yang berbeda secara visual (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil isolasi kandidat bakteri biokontrol dari perairan tambak udang

Sedangkan untuk jumlah isolat yang didapat dari ketiga tempat pengambilan sampel dapat dilihat pada Tabel 1 berikut. Dengan menggunakan pengenceran 10^4 didapat total 10 koloni baik yang berasal dari inlet, petak, dan outlet.

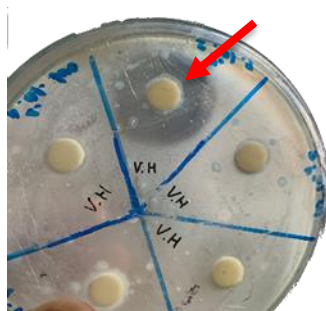
Tabel 1. Jumlah isolat bakteri yang tumbuh pada media SWC (Pengenceran 10^{-4})

Pengenceran	Sampel Air Tambak			Jumlah Koloni
	Inlet (Koloni)	Outlet (Koloni)	Petak (Koloni)	
10^4	5	3	2	10
Jumlah	5	3	2	10

Penapisan (Skrining) Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas penghambatan bakteri dilakukan untuk melihat daya hambat kandidat bakteri biokontrol yang didapat dari isolasi terhadap pertumbuhan bakteri patogen *Vibrio* spp. Dari hasil seleksi *in vitro* terhadap 10 isolat kandidat bakteri biokontrol, dengan menggunakan metode kertas cakram, didapatkan 1 isolat kandidat bakteri biokontrol

yang mampu menghasilkan zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio* spp. Isolat tersebut memiliki kode P1, yaitu isolat yang didapat dari Petak 1 (Gambar. 2). Berdasarkan hasil uji antagonistik yang menggunakan bakteri indikator *Vibrio harveyi* didapatkan 1 isolat bakteri kandidat biokontrol dengan kode P1 (Petak 1) yang menghasilkan zona bening sebesar 21 mm.

**Gambar 2. Hasil penapisan (skrining) aktivitas antibakteri**

Identifikasi Bakteri Kandidat Biokontrol

Karakteristik kandidat bakteri biokontrol pada penelitian ini diketahui dengan melakukan uji morfologi (pengamatan visual) dan

uji biokimiawi. Pengamatan visual yang dilakukan dengan mengamati bentuk dan warna koloni bakteri serta identifikasi dengan uji biokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji morfologi bakteri kandidat biokontrol

Jenis Uji	Holt <i>et al.</i> (1994)	Hasil Uji
Morfologi Koloni :		
Bentuk	Bulat	Bulat
Tepian	Rata	Rata
Elevasi	Cembung	Cembung
Warna	Krem	Krem

Dari hasil uji morfologi dan biokimia terhadap agen bakteri kandidat biokontrol P1 tersebut memiliki kemiripan dari ciri-ciri

bakteri dari Genus *Aeromonas*, seperti yang ditunjukkan oleh Holt et al. (1994).

Tabel 3. Hasil uji biokimia bakteri kandidat biokontrol

Jenis Uji	Holt et al. (1994)	Hasil Uji
Sifat Biokimia :		
Uji Gram	-	-
Uji katalase	+	+
Uji motilitas	Motil	Motil
Uji O/F	Fermentatif	Fermentatif

Pada Gambar 3 terlihat bahwa kandidat biokontrol P1 memiliki sifat gram negatif yang ditandai dengan adanya lendir setelah pemberian KOH 3%. Sedangkan sifat katalase dari kandidat biokontrol ini dapat dilihat adanya gelembung setelah pemberian peroksida H_2O_2 3%.

Demikian pula untuk uji motilitas ditunjukkan dengan adanya pergerakan yang menyebar pada media agar semi solid SWC. Kandidat biocontrol P1 juga memiliki sifat fermentif yang ditunjukkan dengan perubahan warna pada media yang mengandung glukosa.



Berdasarkan uji gram yang dilakukan isolat bakteri biokontrol P1 termasuk dalam gram negatif yang ditandai dengan adanya pembentukan lendir pada kaca objek.



Berdasarkan hasil uji katalase isolat bakteri biokontrol P1 menunjukkan positif yang ditandai dengan terbentuknya gelembung udara.



Berdasarkan hasil motilitas uji isolat bakteri biokontrol P1 yang telah diisolasi pada media agar SWC semi solid bersifat motil yang menunjukkan adanya flagella.



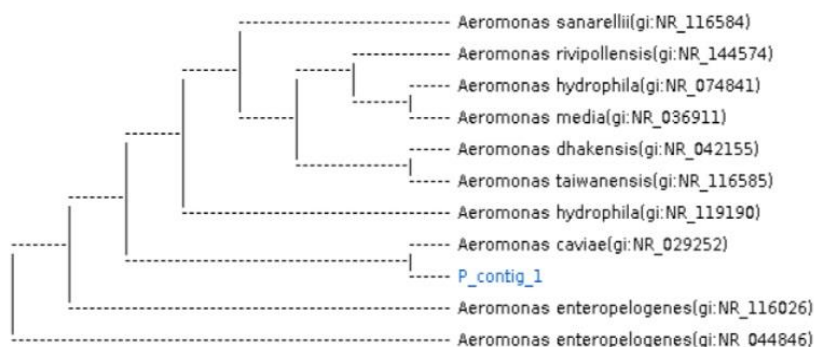
Berdasarkan hasil uji O/F isolat bakteri biokontrol P1 menunjukkan fermentatif terhadap glukosa dikarenakan media yang ditutup paraffin berubah warna dari hijau menjadi kuning.

Gambar 3. Hasil uji biokimia bakteri kandidat biokontrol

Identifikasi Molekuler 16s rRNA

Hasil yang didapat dari pohon filogenetik berdasarkan perbandingan sekuen gen 16s rRNA, menunjukkan bahwa tipe galur kandidat biokontrol yaitu isolat P1 (Petak 1) lebih dekat dengan *Aeromonas caviae*. Isolat P1

dengan *Aeromonas caviae* menunjukkan nilai keidentikan sebesar 99%. Isolat P1 merupakan isolat bakteri yang memiliki genus sama yaitu *Aeromonas* tetapi berbeda spesies (Gambar 4).



Gambar 5. Pohon filogenetika berdasarkan perbandingan sekuens 16S rRNA

Pembahasan

Hasil isolasi bakteri sampel air tambak dengan masa inkubasi 24 jam menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri pada media tumbuh. Hasil pengamatan koloni bakteri meliputi bentuk, tepian, elevasi, dan warna ditemukan 10 koloni kandidat bakteri biokontrol. Dari isolat kandidat bakteri tersebut dilakukan uji penekanan terhadap pertumbuhan bakteri patogen *Vibrio*. Bakteri

pathogen *Vibrio* adalah bakteri yang umum didapat pada akuakultur, khususnya budaya dalam tambak (Lestari *et al.*, 2018; Sarida & Harpeni, 2010; Hatmanti, 2003). Isolat terpilih merupakan isolat yang memiliki aktivitas penghambat terbesar, ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni pada media *Sea Water Complete* (SWC) agar yang mengandung bakteri uji *Vibrio*. Adanya zona bening atau disebut juga

dengan zona hambat mengindikasikan isolat memiliki kemampuan menghasilkan senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji.

Hasil uji antagonistik dengan masa inkubasi 24 jam didapatkan isolat bakteri biokontrol P1 dengan rata-rata diameter zona bening 21 mm, terhadap *Vibrio harveyi* yang berarti daya hambat bakteri biokontrol sangat kuat. Namun hasil uji antagonis dengan *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio alginolyticus* tidak menunjukkan zona hambat dikarenakan kemampuan setiap bakteri berbeda-beda bergantung ketebalan dan komposisi dinding selnya. 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, diameter zona hambat berkisar antara 5-10 mm respon hambatan pertumbuhannya dikategorikan sedang, sedangkan diameter zona hambat lebih kecil dari 5 mm respon hambatan pertumbuhannya dikategorikan lemah. Menurut Naoman *et al.* (2014), ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi besar kecilnya aktivitas penghambatan zat antibakteri yaitu: 1) jenis dan umur dari bakteri penghasil bakteriosin dan bakteri uji; 2) konsentrasi zat antimikroba dan jumlah inokulum atau kepadatan bakteri uji; 3) resistensi dari bakteri terhadap substansi zat antimikroba dengan perbedaan dinding sel dari bakteri uji;

4) kadar substansi aktif atau gugus fungsi dari senyawa antimikroba.

Isolat P1 merupakan bakteri kandidat biokontrol yang berasal dari bagian tambak udang yang memiliki banyak limbah dari sisa pakan, feses, dan eksresi udang. Uji karakteristik isolat P1 ini diperoleh morfologi bakteri dalam bentuk, tepian, elevasi, dan warna dari isolat, yaitu bentuk bulat, tepian rata, elevasi cembung dan berwarna putih (Tabel 2). Ciri-ciri bakteri yang berupa bentuk dan warna yang berbeda menunjukkan bahwa setiap isolat bakteri berasal dari jenis yang berbeda, sehingga ciri-ciri morfologi dapat dijadikan sebagai dasar dalam identifikasi bakteri (Babu *et al.*, 2017).

Namun untuk mendapatkan hasil identifikasi yang lebih tepat harus dilanjutkan dengan uji biokimia yaitu uji gram, uji katalase, uji motilitas, dan uji O/F. Penentuan gram bakteri dilakukan uji KOH 3% yang merupakan pengujian untuk membedakan kelompok gram bakteri (Purwohadisantoso *et al.*, 2009). Berdasarkan uji yang dilakukan isolat bakteri biokontrol P1 termasuk dalam gram negatif. Bakteri Gram negatif ditandai dengan adanya pembentukan lendir pada kaca objek setelah dicampurkan dengan KOH 3%. Hal ini dikarenakan kelompok bakteri Gram negatif memiliki komponen peptidoglikan yang tipis, sehingga memudahkan sel Gram negatif pecah dan ikatan peptida gram negatif dapat dihidrolisis dengan pemberian asam kuat atau basa kuat untuk menghasilkan komponen asam amino dalam bentuk bebas. Berdasarkan hasil uji katalase isolat bakteri biokontrol P1 menunjukkan positif yang ditandai dengan terbentuknya

gelembung udara pada saat campuran H_2O_2 3% dengan isolat bakteri.

Katalase merupakan enzim yang digunakan mikroorganisme untuk menguraikan hidrogen peroksida menjadi H_2O dan O_2 . Uji motilitas pada isolat bakteri biokontrol P1 yang telah diisolasi pada media agar SWC semi solid bersifat motil. Hal ini menunjukkan adanya flagella yang berfungsi untuk melakukan pergerakan. Flagella merupakan salah satu struktur utama di luar sel bakteri yang menyebabkan terjadinya pergerakan (motilitas) pada sel bakteri. Golongan basil dapat bergerak dengan adanya flagella yang tersebar baik pada ujung-ujungnya maupun pada sisi.

Selanjutnya, uji O/F pada isolat bakteri biokontrol P1 menunjukkan adanya aktivitas fermentatif terhadap glukosa. Beberapa bakteri tidak dapat tumbuh tanpa adanya oksigen, ada bakteri yang tetap tumbuh dengan atau tanpa adanya oksigen dan bakteri yang tidak dapat tumbuh dengan adanya oksigen. Uji O/F ini menunjukkan bahwa kandidat biokontrol dari isolat P1 mampu tumbuh pada kondisi tanpa oksigen dan menggunakan sumber energi dari proses fermentasi tersebut.

Berdasarkan hasil uji morfologi dan biokimia bakteri kandidat biokontrol termasuk dalam genus *Aeromonas* dengan memiliki karakteristik yang sama dengan *Aeromonas*. Data di www.ncbi.nlm.nih.gov melalui program BLAST menunjukkan spesies bakteri dari isolat P1 adalah *Aeromonas caviae* dengan nilai keidentikan sebesar 99%. *Aeromonas* adalah mikroba yang dapat ditemukan dimana saja, bersifat psikrofil, mikro-

negatif yang umum ditemukan di perairan air tawar, perairan estuari, dan perairan pesisir lainnya (Chacon *et al.*, 2003). Taksonomi dari genus *Aeromonas* bersifat kompleks, ekspansif, dan mencakup sekitar 36 spesies hingga saat ini (Puah *et al.*, 2018). *Aeromonas* merupakan salah satu patogen potensial yang terdeteksi pada ikan dan hewan laut lainnya seperti ikan nila beku di Mexico (Escarpulli *et al.*, 2003), dan udang laut di Thailand (Yano *et al.*, 2015).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, bakteri *Aeromonas* memiliki sifat antagonisme dengan memiliki zona hambat yang sangat kuat terhadap pertumbuhan bakteri patogen *V. harveyi*. Menurut penelitian Zakiya *et al.* (2012), ada enam puluh tiga isolat *Aeromonas sp.* tahan terhadap asam nalidiksik yang diperoleh dari udang impor. Berdasarkan analisis filogenetik dari urutan *gyrB* menunjukkan bahwa ada 18 bakteri dari jenis *Aeromonas enteropelogenes*, *Aeromonas caviae*, dan *Aeromonas sobria*. Jenis *Aeromonas caviae* yang resisten terhadap fluorokuinolon memiliki sitotoksitas tertinggi di antara semua strain yang diteliti. Menurut penelitian Tien-Tien *et al.* (2019), isolasi, karakterisasi molekuler, dan kerentanan antimikroba *Aeromonas* spp. diperoleh dari ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dan ikan Marble Goby (*Oxyeleotris marmoratus*) di Sabah, Malaysia. Dari hasil penelitian tersebut diketahui keberadaan 15 gen virulensi di *Aeromonas* dari dua spesies ikan yang sering dikonsumsi, yaitu 7 gen dari ikan kerapu macan laut (*Epinephelus fuscoguttatus*) dan 8 gen dari ikan goby marmer air tawar

(*Oxyeleotris marmoratus*) yang didapat dari pembenihan akuakultur di Sabah, Malaysia. Sebanyak 30 *Aeromonas* (17 *A. caviae*, 9 *A. rivuli*, 4 *A. dhakensis*) diidentifikasi menggunakan gen GCAT penargetan PCR, polimorfisme panjang fragmen restriksi rpoD dan analisis filogenetik multi-lokus. Semua strain tersebut resisten terhadap amoksisilin dan cephalothin serta lima strain resisten terhadap berbagai obat. Sembilan gen virulensi (lip, ela, eno, fla, aerA, hylA, dam, alt dan ser) terdapat pada *A. dhakensis*, menunjukkan potensi virulensi spesies ini sebagai patogen ikan.

Menurut penelitian Hao et al. (2014) efek pemberian komposisi pakan *Shewanella haliotis*, *Bacillus cereus*, dan *Aeromonas bivalvium*, secara tunggal atau kombinasi terhadap pertumbuhan, kekebalan bawaan, dan ketahanan penyakit udang (*Litopenaeus vannamei*) menunjukkan bahwa tiga strain tunggal atau kombinasi yang digunakan untuk pakan udang (*Litopenaeus vannamei*) dapat meningkatkan pertumbuhan, memiliki kekebalan bawaan terhadap *Vibrio harveyi*, dan dapat merangsang beberapa respons imun. *Shewanella haliotis*, *Bacillus cereus* dan *Aeromonas bivalvium* memiliki peran yang menjanjikan untuk digunakan sebagai probiotik pada *Litopenaeus vannamei*. Ronghua Wu et al. (2019) menganalisis aktivitas antimikroba *yeast glycoprotein* (YG) terhadap *A. caviae* patogen yang diisolasi dari hati ikan *Carassius auratus gibelio* dan mengungkapkan bahwa *A. caviae* memiliki β -hemolisis, dan median dosis mematikan untuk *Carassius gibelio* adalah $1,33 \times 10^6$ CFU / ml.

Adenilat kinase dari hati dan aktivitas *piruvat kinase* *C. gibelio* dihambat pasca di infeksi *A. caviae*. Berdasarkan uji antimikroba menunjukkan bahwa *A. caviae* adalah organisme yang resisten terhadap berbagai obat tetapi dapat dihambat oleh *yeast glycoprotein* (YG) secara *in vitro*. Konsentrasi penghambatan minimum dari *yeast glycoprotein* (YG) adalah 83,3 mg / ml dan 166,7 mg / ml. Hasil sekuensing mikrobiota menunjukkan bahwa suplemen *yeast glycoprotein* (YG) dapat menurunkan kelimpahan *Aeromonas* dan meningkatkan keanekaragaman mikroba. Dengan demikian, *A. caviae* dari *C. gibelio* adalah strain bakteri yang resisten terhadap berbagai obat dan dapat dihambat secara signifikan oleh *yeast glycoprotein* (YG) secara *in vivo* dan *in vitro*.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan yang dapat ditarik dari hasil identifikasi molekuler isolat bakteri kandidat biokontrol menunjukkan spesies *Aeromonas caviae* dengan nilai keidentikan sebesar 99%. Dan berdasarkan uji aktivitas bakteri didapatkannya 1 isolat bakteri kandidat biokontrol dengan kode P1 yang berasal dari petak tambak udang dan memiliki zona hambat yang sangat kuat.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk uji patogenisitas terhadap bakteri terpilih (*A. caviae*), uji mekanisme penghambatannya terhadap *Vibrio* spp, dan dibutuhkannya eksplorasi dari tambak udang yang lain.

Daftar Pustaka

- Babu, S. V., Triveni, S., Reddy, R. S., and Sathyanarayana, J. 2017. Isolation and characterization of phosphat solubilizing microorganism from maize rhizospheric soils. *Bulletin of Environment, Pharmacology, and Life Science*. 6(1): 194–200.
- Castro-Escarpulli, G., Figueras, M. J., Aguilera-Arreola, G., Soler, L., Fernandez-Rendon, E., Aparicio, G. O., Chacón, M. R. 2003. Characterisation of *Aeromonas* spp. isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico. *International Journal of Food Microbiology*. 84 41–49.
- Chacon MR, Figueras MJ, Castro-Escarpulli G, Soler L, Guarro J. 2003. *Distribution of virulence genes in clinical and virulence genes of Aeromonas* spp. *Antonie Van Leeuwenhoek* 84 (1): 269-27.
- Hao Kai, JiaY.L, Fei L, Xiao L.L, Lin L, Lei X, Gao-X.W. 2014. Efek pemberian komposisi makanan *Shewanella halotis*, *Bacillus cereus* dan *Aeromonas bivalvium*, tunggal atau gabungan terhadap pertumbuhan, kekebalan bawaan, dan ketahanan penyakit udang (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture* 428-429:141-149.
- Hatmanti Ariani, 2003. *Penyakit bakterial pada budidaya krustasea serta cara penanganannya*. *Jurnal Oseanografi*. 3 : 1-10.
- Noaman, N. H., Fattah, A., Khaleata, M., Zaky, S. H. 2014. Factor affecting antimicrobial activity of *Synechococcus Leopoliensis*. *Journal Microbial Research*, 159(4): 395-402.
- Munti S, Esti H. 2010. Screening of potential probiotic *Vibrio* sp. against vibriosis in the *Litopenaeus vannamei*. *Jurnal Biosfera*. 27 (2): 88-94.
- Puah, S. M., Khor, W. C., Kee, B. P., Tan, J. A., Puthuchear, S. D., & Chua, K.H. 2018. Development of a species-specific PCR-RFLP targeting *rpoD* gene fragment for discrimination of *Aeromonas* species. *Journal of Medical Microbiology*. 67 :1271–1278.
- Purwohadisantoso Kristian, Elok Zubaidah, Ella Saparianti. 2009. Isolasi bakteri asam laktat dari sayur kubis yang memiliki kemampuan penghambat bakteri patogen. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol. 10 No. 1: 19-27.
- Ronghua Wu, Junyu Shen, Dandan Tian, Jiaqian Yu, Tao He, Jianhua Yi, and Yun Li. 2019. A potential alternative to traditional antibiotics in aquaculture: yeast glycoprotein exhibits antimicrobial effect in vivo and in vitro on *Aeromonas caviae* isolated from *Carassius auratus gibelio*. *Veterinary Medicine and Science*. 20: 1-10.
- Shakir Zakiya, Saeed Khan, Kidon Sung, Sangeeta Khare, Ashraf Khan, Roger Steele, and

- Mohamed Nawaz. 2012. Molecular characterization of fluroquinolone resistant *Aeromonas* spp. isolated from imported shrimp. *Journal Applied and Environmental Microbiology* p. 8137-8141.
- Tien-tien V.L., Suat-Moi Puah., Ching-Kee K.H., Fui-fui Ching., Jin-Ai M.A.T., Savithri D.A.P., and Ping-Chin Lee. 2019. Isolation, molecular characterization and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas* spp. obtained from Tiger Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) and Marble Goby (*Oxyeleotris marmoratus*) fish in Sabah, Malaysia. *Aquaculture Research*. 22; 1-11.
- Yano, Y., Hamano, K., Tsutsui, I., Aue-umneoy, D., Ban, M., & Satomi, M. 2015. Occurrence, molecular characterization, and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas* spp. in marine species of shrimps cultured at inland low salinity ponds. *Food Microbiology*. 47: 21–27.

