

KELIMPAHAN BAKTERI SALURAN PENCERNAAN IKAN NILEM (*Osteochilus vittatus*) YANG DIBERI PAKAN DENGAN SUPLEMENTASI GARAM (NaCl)

Emyliana Listiowati^{1*}, H. Syakuri¹, A. Ekasanti¹, D. Nugrayani¹, D. Wisudyanti¹, R. Oktavia¹

¹Program Studi Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, 53123, Indonesia

*Email : listiowati8899@gmail.com

ABSTRACT

*Bonylip barb fish is an aquaculture commodity that has the potential to be developed in Banyumas district. In its cultivation activities, bonylip barb are able to consume artificial feed well. The feed consumed will affect the digestive condition. The fish digestive tract is a complex system whose main functions are digestion and absorption. Nutrient absorption in intestinal cells is influenced by active transport of Na⁺ (sodium) ions. Na⁺ and Cl ion levels are obtained through water and feed. This study aims to determine the effect of salt supplementation in commercial feed with different concentrations on bacterial abundance. The research was carried out experimentally with salt supplementation doses (0%, 1%, 2%, 3%, and 4%; w/w) to be applied to bonylip barb seeds (5-7 cm) for 60 days. Research parameters include bacterial abundance, positive and negative gram tests. The results showed that the treatment with the addition of 2% NaCl gave a total number of bacteria that tended to be higher than the control (0% NaCl). The total number of bacteria in the digestive tract of Nilem fish that were given NaCl addition to the feed ranged from $3.78 \pm 6.27 \times 10^6$ CFU/gram to $32.04 \pm 19.51 \times 10^6$ CFU/gram. The addition of NaCl affects the proportion of gram positive and negative in the digestive tract of tilapia (*Oreochromis niloticus*). Gram positive bacteria tended to dominate in the 2% NaCl treatment at 69.99% and gram negative bacteria at 21.69%.*

Keywords: *Bacteria, Bonylip barb, NaCl Supplementation*

ABSTRAK

Ikan Nilem merupakan komoditas budidaya yang berpotensi untuk dikembangkan di kabupaten Banyumas. Pada kegiatan budidayanya, ikan Nilem mampu mengonsumsi pakan buatan dengan baik. Pakan yang dikonsumsi akan mempengaruhi kondisi pencernaannya. Saluran pencernaan ikan merupakan sistem yang kompleks dengan fungsi utamanya adalah digesti dan absorpsi. Absorpsi nutrisi pada sel usus dipengaruhi oleh transport aktif ion Na⁺ (sodium). Kadar ion Na⁺ dan Cl diperoleh melalui air dan pakan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian suplementasi garam pada pakan komersial

dengan konsentrasi berbeda terhadap kelimpahan bakteri. Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan dosis suplementasi garam (0%, 1%, 2%, 3%, dan 4%; w/w) akan diterapkan pada benih nilam (5-7 cm) selama 60 hari. Parameter penelitian meliputi kelimpahan bakteri, uji gram positif dan negatif. Hasil menunjukkan perlakuan penambahan NaCl 2% memberikan jumlah total bakteri yang cenderung lebih tinggi daripada control (NaCl 0%). Jumlah total bakteri saluran pencernaan ikan Nilem yang diberi penambahan NaCl pada pakan berkisar antara $3,78 \pm 6,27 \times 10^6$ CFU/gram sampai dengan $32,04 \pm 19,51 \times 10^6$ CFU/gram. Penambahan NaCl berpengaruh terhadap proporsi gram positif dan negatif di saluran pencernaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Bakteri gram positif cenderung mendominasi pada perlakuan NaCl 2% sebesar 69,99 % dan bakteri gram negatif sebesar 21,69%.

Kata Kunci: Bakteri, Nilem, Suplementasi NaCl

PENDAHULUAN

Ikan Nilem sudah dapat dibudidayakan dan memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi produk unggulan di Banyumas, Purbalingga dan Banjarnegara (Sunarma *et al.*, 2007). Menurut Al Gadri *et al.*, (2014) pada kegiatan budidaya, ikan Nilem mampu mengkonsumsi pakan buatan dengan baik. Jenis pakan yang dikonsumsi akan mempengaruhi kondisi pencernaan ikan. Menurut Eyal *et al.*, (2018) saluran pencernaan ikan merupakan sistem yang kompleks dengan memiliki banyak fungsi.

Fungsi utama dari saluran pencernaan adalah digesti pakan, penyerapan nutrisi dan menjaga keseimbangan ion serta keseimbangan asam dan basa. Penyerapan nutrisi dari pakan ke dalam sel usus dipengaruhi oleh ion-ion melalui mekanisme transport aktif. Ion (Na^+) atau Sodium dan Cl^- diketahui memiliki peranan penting dalam saluran pencernaan ikan terhadap absorpsi beberapa nutrisi pakan ke dalam sel. Kadar ion Na dan Cl dalam tubuh ikan air tawar dapat diperoleh melalui media air dan pakan (Salman, 2009). Kebutuhan ion tersebut mutlak dibutuhkan oleh ikan air tawar melalui pakan yang dikonsumsinya karena tidak bisa mengambil dari lingkungan yang hipotonis (Smith *et al.*, 1989 dalam Salman, 2009). Sumber Na dan Cl tersedia melimpah dan murah dalam bentuk garam. Menurut Mzengereza and Kang'ombe, (2015), suplementasi didefinisikan menambahkan suatu bahan/nutrisi yang kurang dalam pakan. Suplementasi Ion Na dan Cl pada pakan dapat dilakukan dengan menambahkan NaCl (garam). Berbagai riset telah dilakukan untuk melihat efek dari suplementasi NaCl dan memberikan hasil positif untuk peningkatan pertumbuhan ikan Nila dengan dosis 1,5% (Cnaani *et al.*, 2010), kenyamanan osmoregulasi ikan air tawar (Gatlin *et al.*, 1992) dan pengaruhnya pada enzim dan komunitas bakteri pencernaan (Sun *et al.*, 2013).

Komunitas mikrobiota yang sehat ditandai dengan dominannya bakteri yang menguntungkan, sebagai contoh anggota Genus *Bacillus* dan *Lactobacillus* (Ringø *et al.*, 2016) Kondisi komunitas bakteri di saluran pencernaan ikan dilaporkan mengalami perubahan sebagai akibat dari berbagai modulasi pakan, termasuk bentuk pakan (alami dan komersial) dan sumber protein (Jiang *et al.*,

2009; Ringø *et al.*, 2016, 2006; Zhou *et al.*, 2007). Suplementasi pakan dengan garam memberikan pengaruh signifikan pada keragaman bakteri pada bagian usus anterior, middle dan posterior pada ikan Nila Tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Eyal, H, *et al* 2018). Peningkatan kadar garam 0-20 mg/l mampu memfasilitasi sekresi protease dan meningkatkan aktifitas protease pada bakteri anaerobik (Heliang Pang *et al* .,2020). Studi komunitas bakteri saluran pencernaan Nilem dan mengkaitkannya dengan modulasi pakan penting untuk dilakukan.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di laboratorium Fakultas perikanan dan ilmu kelautan yang meliputi pembuatan pakan uji, pemeliharaan ikan dan pengujian mikrobiologi . Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan metode eksperimen berdasarkan acak lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan empat ulangan. Perlakuan suplementasi NaCl dengan konsentrasi yang berbeda, yang terdiri dari :

- P1. Pakan komersial tanpa suplementasi garam
- P2. Pakan komersial dengan 1% (w/w) suplementasi garam
- P3. Pakan komersial dengan 2% (w/w) suplementasi garam
- P4. Pakan komersial dengan 3% (w/w) suplementasi garam
- P5. Pakan komersial dengan 4% (w/w) suplementasi garam

Sampel benih nilem (5-7 cm) didistribusikan pada 20 bak plastik berisi 40 l air yang dilengkapi sistem resirkulasi dengan kepadatan 20 individu per bak. Setelah teraklimatisasi, ikan diberi pakan uji sesuai dengan perlakuan selama 60 hari. Selama pemeliharaan dilakukan pergantian air setiap tujuh hari sebanyak 50% volume. Kualitas air diukur secara berkala yang meliputi oksigen terlarut, temperatur dan pH. Pada akhir pemeliharaan sebanyak 1 ekor ikan diambil secara acak pada masing-masing bak pemeliharaan untuk pengamatan kelimpahan bakteri dan uji Gram positif dan negatif. Data dianalisis secara statistik untuk menarik kesimpulan.

Persiapan Suplementasi Pakan

Pakan yang digunakan adalah pakan komersial dengan kandungan protein 25 – 30%. Pakan seberat satu (1) kg ditambahkan dengan NaCl (garam) dengan jenis garam krosok sesuai dengan perlakuan yang diberikan. Perlakuan suplementasi garam dengan konsentrasi (0%, 1%, 2%, 3%, dan 4%; w/w). Pada konsentrasi 0% artinya pakan komersial tanpa penambahan NaCl (garam). Pada konsentrasi 1% artinya pakan komersial ditambahkan sebanyak 1% dari berat pakannya misal berat pakan adalah 1 kg (1000 g) maka penambahan garam sebesar 10 g. Penambahan pakan pada pakan komersial dilakukan dengan penyemprotan (*spraying*) pada permukaan pellet. Menurut Orhan *et al.*, (2005) *spraying* dilakukan dengan menambahkan 100 ml akuades dengan garam sesuai perlakuan kemudian disemprotkan secara merata pada pakan komersial. Diupayakan semua pakan bisa mendapatkan garam pada permukaannya. Setelah disemprot maka pakan di kering- anginkan sampai kering. Kemudian pakan disimpan didalam wadah yang bersih dan rapat.

Persiapan Pemeliharaan dan Benih Ikan

Bak plastik sebanyak 20 unit dicuci bersih menggunakan deterjen, dikeringkan, dan diisi air sebanyak 60 liter. Setiap unit pemeliharaan diberi lapisan berupa kerikil di bagian dasar setinggi 2-3 cm dan dilengkapi sistem resirkulasi air yang terdiri atas pompa air (2 in 1, air-udara), filter, saluran air dan saluran udara. Sistem resirkulasi diujicoba selama 3 hari sebelum ikan dimasukkan ke dalam setiap bak. Benih nilam akan diambil dari pembenih di Kabupaten Banyumas yang dalam satu tahun terakhir tidak mengalami kematian masal akibat infeksi penyakit. Benih ikan akan dipastikan sehat dengan kriteria merespon pemberian pakan dan tidak menunjukkan adanya gejala penyakit seperti bercak merah, sirip geripis, maupun luka pada permukaan tubuh. Benih ikan dibawa ke tempat penelitian dengan menggunakan metode transportasi standar, menggunakan kantong plastik berisi air 1/3 bagian dan udara 2/3 bagian. Benih ikan kemudian didistribusikan secara acak ke dalam semua bak pemeliharaan yang sudah disiapkan. Aklimatisasi benih ikan dilakukan sampai ikan menunjukkan respon yang normal terhadap pemberian pakan.

Pengambilan Sampel saluran Pencernaan.

Sampel ikan Nilem dimatikan dengan memotong pangkal tulang belakang, diukur panjangnya, dan ditimbang beratnya dan selanjutnya dibedah untuk diambil saluran pencernaannya (usus). Saluran pencernaan diukur panjangnya dan dibedakan menjadi tiga bagian yaitu anterior, middle dan posterior.

Penghitungan Jumlah Total Bakteri

Jumlah total bakteri dihitung berdasarkan metode *total plate count* (TPC) dengan *pour plating* (Tiwari et al., 2009; Tóth et al., 2013). Sampel usus ikan Nilem sepanjang 0,5 cm ditimbang, dimasukkan tabung 1,5 ml, dan dihaluskan dengan pellet pastel. Sampel dihomogenkan dengan larutan NaCl 0,9% steril sebanyak 1 ml. Pengenceran bertingkat dilakukan pada 10^{-1} sampai 10^{-5} . Tabung reaksi diisi dengan larutan NaCl 0,9 % steril sebanyak 4,5 ml/tabung dan sampel usus dimasukkan sebanyak 0,5 ml pada tabung reaksi pertama sebagai pengenceran 10^{-1} selanjutnya divortex supaya homogen dan diambil 0,5 ml untuk diencerkan kembali pada tabung reaksi kedua sebagai pengenceran 10^{-2} dan divortex supaya homogen. Proses dilanjutkan dengan prosedur yang sama sampai dengan pengenceran 10^{-5} . Selanjutnya dari setiap pengenceran 10^{-2} sampai 10^{-4} diambil 0,5 ml untuk dikultur pada media TSA dengan metode *Pour Plate*. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu ruang selama 18-24 jam. Kemudian koloni yang ada dihitung untuk menentukan jumlah total bakteri. Perhitungan jumlah bakteri menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*) dengan rumus sbb :

Kelimpahan bakteri = Σ koloni bakteri x 1/pengenceran x 1/vol yang ditanam (ml) x 1/berat sampel (g) CFU/g

Pengamatan sifat Gram

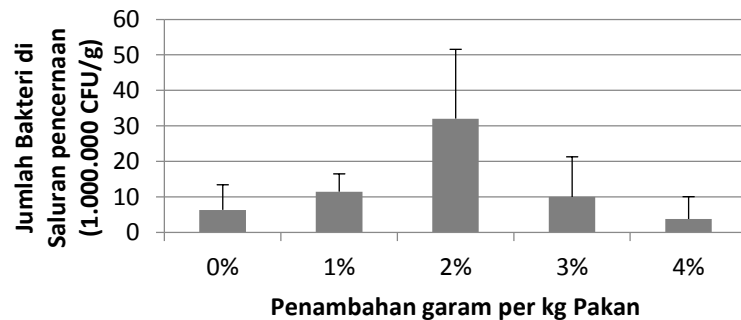
Sebanyak 25 koloni bakteri dari setiap sampel dikultur pada media TSA yang baru untuk pengujian sifat Gram menggunakan KOH 3% (Tiwari et al., 2009; Tóth et

al., 2013). Larutan KOH 3% diteteskan di atas kaca preparat. Seose bakteri dari cawan petri diambil secara aseptis dan disuspensikan pada larutan KOH 3% dengan sesekali jarum ose diangkat perlahan sekitar 0,5 – 1 cm. Ujung ose diamati jika terlihat berlendir berarti bersifat gram negatif, sementara jika tidak berlendir maka bakteri bersifat gram positif.

HASIL PENELITIAN

Jumlah Total Bakteri

Menurut Yunita *et al.*, (2015), bakteri pada saluran pencernaan ikan dapat dihitung kelimpahannya dengan metode Total Plate Count (TPC). Prinsip TPC adalah menentukan besarnya populasi bakteri pada saluran pencernaan ikan. Bakteri ditumbuhkan pada media umum bakteri yaitu TSA dengan pengenceran bertingkat yaitu 10^{-3} sampai 10^{-6} kemudian dihitung jumlah koloni bakteri pada rentang 30 – 300 koloni. Hasil perhitungan jumlah total bakteri ditunjukkan pada Gambar 1.

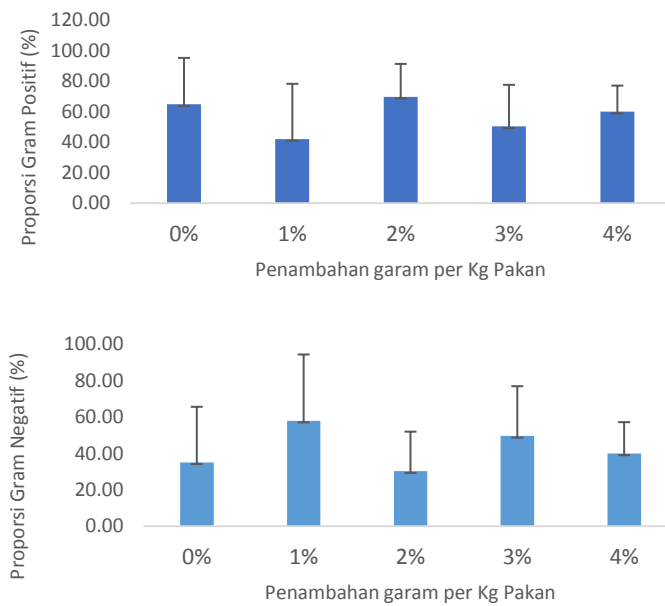


Gambar 1. Jumlah total bakteri saluran pencernaan ikan Nilem yang dimodulasi penambahan NaCl pada pakan dan dipelihara selama 60 hari pemeliharaan.

Berdasarkan Gambar 1 menunjukkan perlakuan penambahan NaCl 2% memberikan jumlah total bakteri yang cenderung lebih tinggi daripada control (NaCl 0%). Jumlah total bakteri saluran pencernaan ikan Nilem yang diberi penambahan NaCl pada pakan berkisar antara $3,78 \pm 6,27 \times 10^6$ CFU/gram sampai dengan $32,04 \pm 19,51 \times 10^6$ CFU/gram.

Proporsi Gram Bakteri

Uji Gram KOH digunakan untuk mengetahui perbandingan bakteri positif dan bakteri negative. Bakteri positif merupakan bakteri yang tidak menghasilkan lendir saat dilakukan uji gram dengan ditetesi KOH 3% (Swandi *et al.*, 2015). Sebaliknya, menurut Irmawati (2014) bakteri gram negatif memiliki dinding sel tebal yang mengandung lipid atau lemak dengan presentasi yang lebih tinggi. Ketika lemak diberi alkohol akan terekstraksi sehingga menghasilkan lendir saat dilakukan uji gram KOH (Firnanda *et al.*, 2013 dalam Irmawati *et al.*, 2014). Hasil perhitungan proporsi Gram positif dan negatif ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Proporsi bakteri Gram positif dan Gram negatif pada saluran pencernaan ikan Nilem yang dimodulasi NaCl pada pakan.

Berdasarkan Gambar 2 menunjukkan hasil perhitungan proporsi bakteri Gram positif dan negatif pada saluran pencernaan ikan Nilem yang ditambahkan NaCl pada pakannya. Bakteri gram positif cenderung mendominasi pada perlakuan NaCl 2% sebesar 69,99 % dan bakteri Gram negatif sebesar 21,69%.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan NaCl pada pakan memberikan pengaruh yang berbeda pada jumlah bakteri di saluran pencernaan ikan Nilem. Pemberian NaCl pada pakan dengan konsentrasi tertentu kemungkinan menghambat sebagian jenis bakteri di saluran pencernaan, tetapi tidak mempengaruhi pertumbuhan sebagian bakteri lainnya. Hal ini ditunjukkan dengan perbedaan total bakteri pada setiap perlakuan. Hal ini karena sebagian besar bakteri hidrofobik masih dapat bertahan hidup, bakteri hidrofobik memiliki toleransi terhadap NaCl (Puspitasari, 2021). Pemberian garam juga diketahui dapat menormalkan pH air, membersihkan kotoran pada insang, mengatasi serangan parasit serta mematikan vektor penyakit seperti mencegah munculnya bakteri dan memberantas jamur *Saprolegnia* yang dapat mematikan ikan (Akbar, 2022). Keberadaan NaCl juga berperan dalam menarik air dari tubuh ikan sehingga dapat menyeleksi atau mengurangi jumlah bakteri tertentu yang berkembang biak. Jenis bakteri yang tahan terhadap NaCl akan tumbuh dalam jumlah yang lebih banyak karena hilangnya kompetitor dari jenis bakteri yang tidak bisa bertahan. Kelimpahan suatu jenis bakteri di dalam suatu komunitas dipengaruhi oleh keberadaan jenis bakteri yang lain sebagai kompetitor dalam hal nutrisi, ion, dan ruang (Hibbing *et al.*, 2010).

Hasil pengamatan proporsi bakteri Gram pada saluran pencernaan ikan nila menunjukkan bakteri Gram positif lebih tinggi proporsinya dibandingkan dengan bakteri Gram negatif pada penambahan NaCl 2% pada pakan. Hal ini diduga

dipengaruhi oleh daya tahan bakteri gram positif dan negatif. Berdasarkan struktur dinding selnya, bakteri gram positif memiliki dinding sel yang tebal dengan lemak yang tipis, sedangkan bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang tipis dengan lapisan lemak yang tebal (Lestari, 2016). Hal ini diduga menjadi alasan bahwa bakteri gram positif memiliki tolesansi yang lebih tinggi pada NaCl yang terkandung pada pakan.

KESIMPULAN

Penambahan NaCl 2% pada pakan memberikan pengaruh terhadap total bakteri pencernaan ikan Nilem (*Osteochilus vittatus*) dan cenderung lebih tinggi daripada control (NaCl 0%). Penambahan NaCl berpengaruh terhadap proporsi Gram positif dan negatif di saluran pencernaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Bakteri gram positif cenderung mendominasi pada perlakuan NaCl 2% sebesar 69,99 % dan bakteri Gram negatif sebesar 21,69%.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, Adhitya Yoga. (2022). Pengaruh Penambahan Garam Ikan dan Probiotik terhadap Kualitas Air Pada Ikan Guppy. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Sains dan Terapan*. Vol 2 (4). 243 – 254.
- Al Gadri., Untung Susilo., Slamet Priyanto. Aktivitas Protease Dan Amilase pada Hepatopankreas dan Intestine Ikan Nilem (*Osteochilus haseltii* C.V). *Scriptica Biologica*. Vol 1 (1). 43-47.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic Local Alignment Search Tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2).
- Castresana, J. (2000). Selection of Conserved Blocks from Multiple Alignments for Their Use in Phylogenetic Analysis. *Molecular Biology and Evolution*, 17(4), 540–552. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026334>
- Chevenet, F., Brun, C., Bañuls, A. L., Jacq, B., & Christen, R. (2006). TreeDyn: Towards Dynamic Graphics and Annotations for Analyses of Trees. *BMC Bioinformatics*, 7, 1–9.
- Cnaani, A., Assaf B, Tatiana S, Alexander, S, Ana Milstein and Sheenan Harpaz. 2010. Dietary salt supplement increase the growth rate in freshwater culture tilapia hybrids. *Aquaculture Research*, 41. 1545 – 1548.
- Dalahi., Sri Subekti., Agustono. 2014. Isolasi dan Identifikasi Bakteri yang Ada Pada Saluran Pencernaan Ikan Gurami (*Ospronemus gouramy*) Dengan pemberian Pakan Komersial Yang Berbeda. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. Vol 6 (1). Hal 87 -92.
- Devi. O, dan Singgih Wibowo, 2016. Penapisan dan Identifikasi bakteri Lipolitik Yang Diisolasi Dari limbah Pengolahan Surimi dan Pengalengan Rajuangan. *JPB Kelautan dan Perikanan* Vol. 11, 147 – 158.
- Eyal Hallali, Fotini Kokou, Tapan Kumar Chourasia, Tali Nitzan, Pazit Con, Sheenan Harpaz, Itzhak Mizrahi, Avner Cnaani. 2018. Dietary salt levels affect digestibility, intestinal gene expression, and the microbiome, in Nile

- tilapia (*Oreochromis niloticus*). *PLOS ONE*
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202351>.
- Fujaya Y. 2004. Fisiologi ikan: dasar pengembangan teknologi perikanan. Jakarta: Rineka Cipta.
- Gascuel, O. (1997). BIONJ: An Improved Version of the NJ Algorithm Based on A Simple Model of Sequence Data. *Molecular Biology and Evolution*, 14(7), 685–695. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a025808>
- Gatlin DM, Mackenzie DS, Craig SR, Neill WH. Effect of dietary sodium chloride on red drum juveniles in waters of various salinities.1992. *The Progressive Fish Culturist*. 54:220-227.
- Harms J, Anger K, Klaus S, Seeger B. 1991. Nutritional effects on ingestion ate, digestive enzyme activity, growth and biochemical composition of Hyas araneus L. (Dekapoda: Majidae) larvae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 145: 233-265.
- Heliang Pang, Xiaodong Xin, Junguo He, Baihui Cui, Dabin Guo1, Shiming Liu1, Zhongsen Yan, Chong Liu, Xinyu Wang, Jun Nan.,2020. Effect of NaCl concentration on microbiological properties in NaCl assistant anaerobic fermentation : hydrolase activity and microbial community distribution. *Front. Microbiol.*, 09 October 2020. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.589222>
- Hibbing, M. E., Fuqua, Clay., Parsek, M. R., Peterson, B. 2010. Bacterial Competition : Surviving and Thriving in the Microbial Jungle. *Nature Review*
- Jiang, W.-D., Feng, L., Liu, Y., Jiang, J., Zhou, X.-Q., 2009. Growth, digestive capacity and intestinal microflora of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) fed graded levels of dietary inositol. *Aquac. Res.* 40, 955–962. doi:10.1111/j.1365-2109.2009.02191.x
- Kottelat, M., 2013. The fishes of the inland waters of Southeast Asia: a catalogue and core bibliography of the fishes known to occur in freshwaters, mangroves and estuaries. *Raffles Bulletin of Zoology*, 27, pp. 1– 663.
- Kurniasih. T., Widanarni., Mulyasari., Melati., Z.I. Azwar., A.M.Lusiawati. 2013. Isolasi, Seleksi, dan Identifikasi Bakteri dari Saluran Pencernaan Ikan Lele Sebagai Kandidat Probiotik. *Jurnal riset akuakultur*. 8 (2) : 227 – 286.
- Lestari, Y., Ardiningsih, P., & Nurlina. 2016. Aktivitas Antibakteri Gram Positif dan Negatif dari Ekstrak dan Fraksi Daun Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb.). *Jkk*, 5(4): 1–8.
- Mzengereza, K dan Kang'ombe J. 2015. Effect of Dietary Salt (Sodium Chloride) Supplementation on Growth, Survival and Feed Utilization of *Oreochromis shiranus* (Trewavas, 1941. *J Aquac Res Development* 2015, 7:1
- Octavia, Y., Silalahi, S., Nugroho, T., & Felix, F. (2011). Skrining Bakteri *Vibrio* sp. Asli Indonesia Sebagai Penyebab Penyakit Udang Berbasis Teknik 16S Ribosomal DNA, 3(2), 85–99.
- Orhan, T., Metin Kumlu., Mahmet K., Gul Ayten, K. 2005. Enhancement of growth and feed utilization of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed supplementary dietary salt in freshwater. *Aquaculture Research*, 2005, 36, 361-369. doi:10.1111/j.1365-2109.2004.01211.x.
- Puspitasari, F., Aisyah, S., Wilianti, S. A., Albarah, K. S., Adawyah, R. 2021. Pengaruh Penambahan Garam Terhadap Perubahan Karakteristik Kimia dan

- Pertumbuhan Bakteri pada Ikan Sepat Rawa (*Trichogaster trichopterus*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol 24 (1) : 113 – 121.
- Ringø, E., Sperstad, S., Myklebust, R., Refstie, S., Krogdahl, Å., 2006. Characterisation of the microbiota associated with intestine of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.): The effect of fish meal, standard soybean meal and a bioprocessed soybean meal. *Aquaculture* 261, 829–841. doi:https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.06.030
- Ringø, E., Zhou, Z., Vecino, J.L.G., Wadsworth, S., Romero, J., Krogdahl, Å., Olsen, R.E., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S., Owen, M., Lauzon, H.L., Martinsen, L.L., De Schryver, P., Bossier, P., Sperstad, S., Merrifield, D.L., 2016. Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. A never-ending story. *Aquac. Nutr.* 22, 219–282. doi:10.1111/anu.12346
- Swandi, M. K., Periadnadi, P., & Nurmiati, N. (2015). Isolasi Bakteri Pendegradasi Limbah Cair Industri Minyak Sawit. *Jurnal Biologi UNAND*, 4(1).
- Salman, N., 2009. Effect of dietary salt on feeding, digestion, growth and osmoregulation in teleost fish. *Osmoregulation and Ion Transport* (pp.109-150), Edition: Volum 1, Chapter: 4. Publisher: Society of Experimental Biology UK (SEB).
- Sun, H, Elie Jami, Sheenan H, Itzhak, M. 2013. Involvement of dietary salt in shaping bacterial communities in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Scientific Report*. 3 :1558. DOI: 10.1038/srep01558.
- Sunarma., Hastuti.,Y.Sistina., 2007. Penggunaan Madu dengan Yang Dikombinasikan Dengan Ekstender Yang Berbeda Pada Pengawetan Sperma Ikan Nilem (Indonesian Sharkminnow, *Osteochilus hasseltii* Valenciennes,1842). Konferensi Akuakultur Indonesia, Surabaya 5 – 7 Juni 2007. Masyarakat Akuakultur Indonesia.
- Syamsuri, A, M.Alfian,V. Muharta, A. Mukti, Kismiyati, W. Satyantini . 2018. Teknik pembesaran ikan Nilem (*Osteochillus hasseltii*) di Balai pengembangan dan pemacuan stok ikan gurami dak nilem (BPPSIGN) tasikmalaya, Jawa Barat. *Journal of Aquaculture and Fish Health*.
- Syvokiene, J., S. Stankus., L. Andreikenaite., 2011. Bacterioflora of Digestive Tract of Fish In Vitro. *Vet Med Zoot.* 56 (78) : 93 – 101.
- Sulastri, Rachmatika I, Hartoto DI. 1985. Pola makan dan reproduksi ikan Tor spp. sebagai dasar budidayanya. *Berita Biologi*. 3(3): 84-91.
- Tiwari, R., Hoondal, G., Tewari, R., 2009. Laboratory Techniques in Microbiology and Biotechnology. Abhishek Publications, Chandigarh (India).
- Tóth, E.M., Borsodi, A.K., Felföldi, T., Vajna, B., Sipos, R., Márialigeti, K., 2013. Practical Microbiology: based on the Hungarian practical notes entitled “Mikrobiológiai Laboratóriumi Gyakorlatok.” Eötvös Loránd University, Hungary.
- Zhou, Z., Ding, Z., Huiyuan, L. V, 2007. Effects of Dietary Short-chain Fructooligosaccharides on Intestinal Microflora, Survival, and Growth Performance of Juvenile White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *J. World Aquac. Soc.* 38, 296–301. doi:10.1111/j.1749-7345.2007.00099.x