

Analisis biokimia bakteri kandidat probiotik yang diisolasi dari saluran pencernaan udang jerbung (*Penaeus merguensis*)

Biochemical analysis of candidate probiotic bacteria was isolated from the digestive tract of the Banana shrimp (*Penaeus merguensis*)

Received: 18 October 2022, Revised: 07 June 2023, Accepted: 01 July 2023
DOI: 10.29103/aa.v10i2.9062

Hendra Raharja^a, Anis Zubaidah^{a*}, dan Dony Prasetyo^a

^aProgram Studi Akuakultur, Fakultas Pertanian Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang

Abstrak

Di alam, banyak sekali jenis bakteri yang mampu berperan sebagai probiotik. Bakteri-bakteri tersebut dapat berasal dari tanah, air, tumbuhan atau bahkan saluran pencernaan hewan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis karakteristik biokimia bakteri kandidat probiotik yang berasal dari saluran pencernaan udang jerbung. Metode yang digunakan adalah metode deskriptif eksploratif untuk melakukan analisis biokimia terhadap jenis bakteri probiotik yang berasal dari udang jerbung. Analisis biokimia meliputi uji Katalase, uji Oksidase, uji Urea, uji Citrate, TSIA, Methyl red, Voges-Proskaeurs, serta uji fermentasi gula-gula (D-Glucose, Sucrose, Inositol, Manisitol). Hasil analisis laboratorium menunjukkan bahwa bakteri yang diisolate memiliki ciri morfologi berbentuk batang, gram positif, tidak menghasilkan enzim katalase dan oksidase, tetapi dapat menghasilkan enzim sitrat. Bakteri ini bersifat asam, mampu memfermentasi Glukosa, Sukrosa, inositol, dan Manitol. kesimpulan penelitian ini, bakteri kandidat probiotik dari hasil uji menunjukan kesesuaian dengan bakteri *Lactobacillus* sp.

Kata kunci: isolasi, probiotik, udang

Abstract

*In nature, there are many types of bacteria that can act as probiotics. These bacteria can come from soil, water, plants or even the digestive tract of animals. This study aims to analyze the biochemical characteristics of probiotic candidate bacteria originating from the digestive tract of giant prawns. The method used is a descriptive explorative method to perform biochemical analysis of the types of probiotic bacteria derived from jerbung shrimp. The biochemical analysis included the Catalase test, Oxidase test, Urea test, Citrate test, TSIA, Methyl red, Voges-Proskaeurs, and sugar fermentation test (D-Glucose, Sucrose, Inositol, Manisitol). Laboratory analysis results showed that the isolated bacteria had morphological characteristics rod-shaped, gram-positive, does not produce catalase and oxidase enzymes, but can produce citric enzymes. These bacteria are acidic, capable of fermenting glucose, sucrose, inositol, and mannitol. The conclusion of this study, probiotic candidate bacteria from the test results showed compatibility with *Lactobacillus* sp bacteria.*

Keywords: isolation; probiotics; shrimp

1. Introduction

1.1. Latar belakang

Udang vanname (*Litopenaeus vanname*) merupakan komoditas yang memiliki nilai ekonomis tinggi pada sector perikanan di Indonesia. Perkembangan sektor budidaya perikanan sejak tahun 2001 hingga sekarang, udang vanname dikembangkan menjadi komoditas unggulan perikanan nasional, namun kegiatan budidaya untuk mencapai produksi maksimal masih memiliki tantangan tersendiri pada pembudidaya (Lunes et al., 2021). Tantangan ini antara lain tahun 2017 produksi udang vaname mengalami penurunan hingga 20% dari jumlah produksi sebesar 698,14 ton pada tahun sebelumnya (Suriawan et al., 2019). Kendala yang dihadapi pembudidaya selain wabah

* Korespondensi: Program Studi Akuakultur, Fakultas Pertanian Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang, UMM Kampus III GKB 1 Lt. 5 Jl. Raya Tlogomas No. 246 Malang Indonesia.
e-mail: aniszubaidah@umm.ac.id

penyakit yang menyebabkan penurunan produksi, juga dipengaruhi pengelolaan kualitas air yang kurang maksimal serta pemanfaatan pakan yang kurang (Liu *et al.*, 2021).

Pengelolaan kualitas air dapat diupayakan dengan pemanfaatan probiotik dengan pencampuran pakan atau diaplikasikan pada air budidaya secara langsung (Ringo *et al.*, 2020). Menurut Ding *et al.*, (2020) pengaplikasian probiotik pada media budidaya sebagai tambahan nutrisi yang menguntungkan dengan kandungan mikroba hidup yang diberikan pada hewan inangnya. Manfaat pemberian probiotik antara lain dapat meningkatkan metabolisme, nafsu makan, pertumbuhan, aktivitas enzim, serta menghambat bakteri patogen (Van Doan *et al.*, 2019). Penggunaan probiotik dapat memberikan efek yang baik jika memenuhi beberapa kriteria, antara lain jenis probiotik yang digunakan, cara, dosis, dan waktu pemberian (Ringo *et al.*, 2020).

Lebih dari 90% jenis probiotik digunakan oleh petambak udang untuk meningkatkan hasil budidaya (Rico *et al.*, 2013). Probiotik dapat berperan dalam meningkatkan pencernaan dengan memproduksi enzim yang membantu proses pencernaan seperti amilase, lipase, dan protease. Agar dapat mengoptimalkan peran probiotik tersebut, maka perlu dilakukan analisis biokimia bakteri. Uji biokimia bakteri merupakan salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi suatu biakan murni hasil isolasi melewati sifat-sifat biologisnya (Pelczar dan Chan, 2010). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik bakteri dari saluran pencernaan udang Jerbung melalui analisis biokimia hingga diketahui jenis bakteri tersebut. Udang jerbung dipilih sebagai sampel karena diharapkan hasil isolat yang diperoleh mampu dikembangkan dan aplikasikan pada budidaya udang.

2. Materials and Methods

2.1. Waktu dan tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama satu bulan yang bertempat di Laboratorium Perikanan, Program Studi Akuakultur, Fakultas Pertanian Peternakan Universitas Muhammadiyah Malang, Jawa Timur.

2.2. Bahan dan alat penelitian

Adapun bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah udang jerbung yang diperoleh dari hasil tangkapan alam di perairan Situbondo, Jawa Timur serta bahan-bahan yang digunakan untuk uji-biokimia.

2.3. Prosedur penelitian

Prosedur kegiatan isolasi dan seleksi bakteri proteolitik sebagai kandidat probiotik mengacu pada Todorov dan Dicks (2004). Sampel yang digunakan adalah udang jerbung (*Panaeus marginatus*) yang diperoleh dari hasil tangkapan nelayan sebanyak 10 ekor (± 30 gr/ekor). Kemudian Udang diiris dari dorsal ke anus dengan pisau steril, lalu untuk mengambil usus dilakukan dengan pinset steril. Usus udang kemudian diletakkan dalam cawan petri dan dicuci dengan aquadest steril. Usus yang sudah ditimbang seberat satu gram dihancurkan dan disuspensikan ke dalam air pengenceran steril. Air untuk pengenceran menggunakan air laut dan aquadest steril dengan perbandingan 70% dan 30%. Selanjutnya dilakukan pengenceran dan diinokulasi pada media media *Eosin Methylene Blue* (EMB). Setelah itu diinkubasi selama 1 hari. Bakteri yang tumbuh selanjutnya diamati dan diseleksi hingga diperoleh satu isolat sebagai kandidat probiotik (Muliando *et al.*, 2021). Isolat tersebut selanjutnya dianalisis biokimia untuk mengetahui jenis bakteri tersebut.

Uji fisiologis dengan uji Katalase (Sunatmo, 2007), suspensi BPF diinokulasikan ke dalam tabung reaksi 9 mL berisi

media NA kemudian ditetesi Hidrogen Peroksida (H_2O_2) sebanyak 1-2 tetes menggunakan mikro pipet dan diamati. Bila ada gelembung-gelembung udara menunjukkan bahwa reaksi tersebut positif dan bila tidak terdapat gelembung udara pada tabung reaksi maka reaksi tersebut negatif.

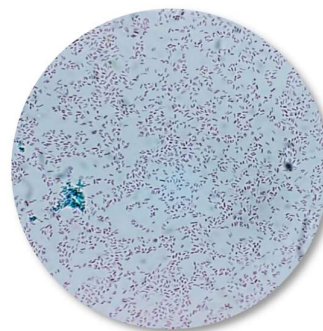
Uji Oksidase, biakan masing-masing bakteri dioleskan pada kertas oksidase menggunakan jarum ose secara aseptik. Perubahan koloni bakteri diamati sekitar ± 5 detik. Bila koloni berubah warna deep blue/ violet pada kertas oksidase menunjukkan positif oksidase, sementara reaksi negatif ditandai dengan warna merah pada kertas oksidase. Uji TSIA dilakukan dengan menggosokkan biakan dengan ose steril pada media TSIA dengan cara menusuk ose sampai sepertiga dasar tabung. Kemudian diangkat dan digores secara zig zag pada permukaannya setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang, serta uji fermentasi gula-gula (D-Glucose, Sucrose, Inositol, Manisitol).

3. Result and Discussion

Pengujian bakteri melalui uji analisis biokimia melalui pengamatan isolasi, yang meliputi uji Katalase, uji Oksidase, uji Urea, uji Citrate, TSIA, Methyl red, Voges-Proskaeurs, serta uji fermentasi gula-gula (D-Glucose, Sucrose, Inositol, Manisitol). Adapun hasil identifikasi bakteri kandidat probiotik berdasarkan uji karakteristik biokimia, sebagai berikut:

Tabel 1
Uji identifikasi berdasarkan karakteristik biokimia

Uji Biokimia	Holt <i>et al.</i> , 1994	Isolate
Bentuk	Batang	Batang
Produksi Gelatin		-
Pembentukan Spora	+	+
Katalase	-	-
Oksidase	-	-
Urea	-	-
Citrate	+	+
TSIA		A/A. H2S
Methyl red	-	+
Voges-Proskauer	+	-
D-Glucose, acid (asam)	+	+
Sucrose, acid D (asam)	+	+
Inositol (asam)	+	+
Mannitol, acid (gas)	+	+
D-Glucose, gas (gas)		+
Sucrose, acid D (gas)		+
Inositol (gas)		+
Mannitol, acid (gas)		+
NILAI KESESUAIAN		<i>Lactobacillus sp.</i>



Gambar 1. Bakteri *Lactobacillus sp* (perbesaran 1000x)

Hasil uji identifikasi berdasarkan karakteristik biokimia pada isolat memiliki bentuk batang menurut Trimudita *et al.*,

(2021) *Lactobacillus* sp tergolong bakteri asam laktat memiliki dua bentuk batang dan bulat yang memproduksi asam laktat selama proses fermentasi karbohidrat sebagai hasil akhir metabolit utama dan termasuk bakteri gram positif. Bakteri gram positif memiliki warna ungu karena bakteri tersebut dapat mempertahankan warna dari kristal violet yang menandakan bakteri tersebut mempunyai lapisan peptidoglikan yang tebal pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil pengujian produksi gelatin (negatif)

Uji gelatin bertujuan untuk menguji bakteri yang mampu menghidrolisis gelatin menjadi senyawa lebih sederhana, salah satunya merupakan asam amino (Prihanto *et al.*, 2018). Isolat bakteri pada pengamatan produksi gelatin yang bereaksi positif ditandai dengan mencairnya media pada tabung reaksi, sedangkan isolat bakteri yang bereaksi negatif, media akan membeku pada tabung reaksi. Pencairan tersebut disebabkan oleh beberapa mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim ekstraseluler proteolitik, yang disebut gelatinase, yang bekerja menghidrolisis protein menjadi asam-asam amino. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, menunjukkan hasil reaksi isolat bakteri dengan medium tetap berada dalam keadaan beku karena biakan tidak menghasilkan gelatinase dan menunjukkan hidrolisis gelatin yang lambat, sedangkan medium keadaan membeku maka reaksi dinyatakan negatif.

Pengamatan morfologi bakteri pada isolate memiliki spora berdasarkan pengamatan hasilnya positif. Bakteri dengan hasil positif memiliki dinding spora pada bakteri bersifat impermeabel, tetapi zat-zat warna dapat diserap ke dalamnya dengan jalan memanaskan preparat. Sifat impermeabel ini mencegah dekolonisasi spora oleh alkohol bila diperlakukan dalam waktu yang sama seperti pada dekolonisasi sel-sel vegetatif. Lapisan pada luar spora merupakan penahan yang baik terhadap bahan kimia, sehingga spora sukar untuk diwarnai. Spora pada bakteri dapat diwarnai dengan dipanaskan. Pemanasan menyebabkan lapisan luar spora mengembang, sehingga zat warna dapat masuk. Menurut Suwito (2010), spora merupakan mekanisme pertahanan diri dari mikroorganisme lain serta mematikan bakteri patogen.

Mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob dapat menguraikan zat toksik melalui hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob. Katalase adalah enzim yang mengkatalisasikan penguraian hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan O_2 . Penentuan adanya katalase ini terlihat dari pembentukan gelembung udara disekitar koloni setelah ditambahkan larutan H_2O_2 3%. Menurut Mustaqim *et al.*, (2014) menentukan adanya katalase diuji dengan menggunakan larutan hidrogen peroksida 3 % (H_2O_2) pada koloni terpisah. Kemudian 1 tetes larutan H_2O_2 diteteskan diatas permukaan koloni. Pada bakteri yang bersifat katalase positif terlihat adanya

pembentukan gelembung gas di sekitar koloni dan sedangkan hasil dari isolat gas tidak terbentuk katalase berarti katalase dinyatakan negatif.



Gambar 2. Hasil uji katalase

Pengujian oksidase dilakukan pada koloni bakteri dengan cara koloni ditetesi 3 tetes larutan naptol kemudian ditetesi 3 tetes larutan 1,4- phenyldiamin. Reaksi dinyatakan bersifat oksidasi negatif karena warna koloni tidak berubah dalam waktu dua menit menjadi warna hitam. Sedangkan pada uji Urea bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri mengubah urea menjadi amoniak. Media untuk uji urea menggunakan Urea Base Agar. Hasil negatif ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan warna media (Mustaqim *et al.*, 2014).



Gambar 4. Hasil pengujian oksidase

Kemampuan mikroorganisme menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi dapat di amati menggunakan uji sitrat. Menurut Ulfa *et al.*, (2016) uji biokimia yang menentukan bakteri dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon untuk mendapatkan energi. Berdasarkan hasil penelitian, semua isolat bakteri menunjukkan reaksi positif, maka media yang semula berwarna hijau akan berubah menjadi warna biru. Hal ini jika terjadi perubahan pada warna medium menjadi warna biru maka menunjukkan reaksi positif, sedangkan jika medium tetap berwarna hijau maka isolat tersebut menunjukkan reaksi negatif negatif. Bila mikroba mampu menggunakan sitrat, maka asam akan dihilangkan dari medium biakan, sehingga menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru.

Uji H_2S menggunakan media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA). Media TSIA yang digunakan juga dapat digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri memfermentasi karbohidrat (glukosa, sukrosa, dan manitol). Untuk mengkonfirmasi hasilnya, seringkali disertai dengan uji fermentasi karbohidrat. Simbol A/A H_2S memiliki hasil uji TSIA pada menghasilkan warna kuning/kuning dengan endapan hitam yang berarti fermentasi glukosa dan laktosa dan atau sukrosa, yang menghasilkan Hidrogen Sulfida (H_2S). Hasil uji A/A berarti bakteri dapat memfermentasi semua jenis karbohidrat (Ulfa *et al.*, 2016).

Produksi asam sewaktu pemecahan gula (glukosa) pada proses fermentasi dapat terdeteksi pada uji methyl red. Menurut Ulfa *et al.*, (2016) pada uji methyl red digunakan untuk

mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi glukosa. Media yang digunakan adalah glukosa phospat. Setelah diinkubasi, pada media ditambahkan methyl red 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media menjadi merah setelah setelah ditambahkan methyl red 1%, setelah penambahan indikator methyl red pada media glukosa dengan bufer pepton dan fosfat dipotassium berubah menjadi merah pada permukaan koloni. Fermentasi pada glukosa ini dapat menghasilkan sejumlah besar asam format, asam suksinat, asam asetat, asam laktat, etanol, karbondioksida, dan hidrogen.

Glukosa phospat merupakan media yang digunakan untuk uji VP (Voges-Proskauer). Uji ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri yang dapat memfermentasikan karbohidrat menjadi 2,3-butanadiol sebagai produk utama. Ulfa *et al.*, (2016) pada uji VP setelah diinkubasi, pada media ditambahkan α naphthol 5% dan KOH 40% Jika setelah ditambahkan α naphthol 5% dan KOH 40% terjadi perubahan warna media menjadi merah, berarti bakteri dapat membentuk asetolin (asetilmethylcarbinol) yang merupakan senyawa utama dalam pembentukan 2,3-butanadiol. Sedangkan jika hasil negatif maka tidak terjadi perubahan warna menjadi merah muda pada media.

Umumnya bakteri menggunakan sumber karbon yang paling sederhana untuk difermentasikan. *Lactobacillus* sp dapat mendegradasi karbohidrat menjadi glukosa. Bakteri memiliki kemampuan untuk mereduksi berbagai macam jenis gula menjadi gula sederhana maupun gula kompleks. Fermentasi karbohidrat pada pengujian glukosa, sucrose, Inositol, dan manitol akan ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media menjadi merah (asam), dan dinyatakan positif ketika terdapat gelembung gas. Jenis karbohidrat yang digunakan dalam uji merupakan kelompok monosakarida (D-Glukosa dan Sukrosa) dan kelompok polisakarida yang termasuk (Inositol dan Manitol). Pemberian warna yang awalnya orange kemerahan, karena diberikan phenol red dapat mengalami perubahan menjadi warna kuning setelah 24 jam selam diinkubasi. Hal tersebut dapat terjadi dikarenakan pembentukan asam oleh bakteri pada media serta terbentuk gelembung gas pada tabung durham (Sutrisna, 2013). Menurut *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Second Edition* (tahun) pada bakteri isolat, memiliki ciri yang sama dengan *Lactobacillus* sp. Identifikasi dan karakteristik bakteri pada saluran pencernaan udang jerbung yang di dapatkan dari hasil tangkapan perairan Situbondo Jawa Timur, diperoleh dengan sampel isolat. Menurut Muliando *et al.*, (2021) isolat yang didapat dari saluran pencernaan udang termasuk bakteri proteolitik sehingga memenuhi syarat sebagai kandidat bakteri probiotik. Pengamatan pada tabel 1, uji biokimia positif teridentifikasi dengan bakteri *Lactobacillus* sp. Isolat yang ditemukan mengindikasikan bahwa bakteri dapat berperan dalam mekanisme kerja probiotik.



Gambar 5. Hasil pengujian Glucose, Sucrose, Inositol, Manitol, Urea, Citrat, TSIA (Triple Sugar Iron Agar), Methyl red, dan VP (Voges-Proskauer).

4. Conclusion

Berdasarkan hasil dan pembahasan mengenai identifikasi bakteri kandidat probiotik yang diambil dari saluran pencernaan udang jerbung dapat disimpulkan bahwa bakteri tersebut memiliki kesesuaian dengan bakteri *Lactobacillus* sp.

Bibliografi

- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Stanley, J.T. and William, S.T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, 786-788.
- Liu, X., He, X., Huang, G., Zhou, Y., & Lai, J. 2021. Bioremediation by the mullet Mugil cephalus feeding on organic deposits produced by intensive shrimp mariculture. *Aquaculture*, 541: 736674.
- Lunes, R.S., Branco, P.C., Pressinotti, L.N., de Carvalho, R.A.D.L., & da Silva, J.R.M. 2021. Does the heterotrophic system influence the cellular immune response of *Litopenaeus vannamei* shrimp In vitro phagocytosis indices and superoxide anion production comparisons. *Fish and Shellfish Immunology Reports*, 2: 100009.
- Muliando, D., Widyowati., Raharja, H., dan Zubaidah, A. 2021. Aktivitas Proteolitik Bakteri Kandidat Probiotik Dari Saluran Pencernaan Udang Jerbung, *Panaeus merguensis*. *Jurnal Riset Akuakultur*, 16(4): 221-229.
- Mustaqim., Reza, M, R., Bernadeta. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik Pada Saluran Pencernaan Ikan Lais. *JOM FMIPA*, 1(2).
- Petczar, M. J. dan Chan, E. C. S. 2010. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI press.
- Prihanto, A.A., Laksono, H.D., Jaziri, A.A., Nurdiani, R., Pradarameswari, K.U. 2018. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Mangrove *Sonneratia alba* Penghasil enzim Gelatinase Dari Pantai Sendang Biru, Malang, Jawa Timur. *Indonesian Journal of Halal*. Universitas Brawijaya.
- Rico, A., Satapornvanit, K., Min, J., Shahabuddin, A.M., Henriksson, P.J.G., Murray, F.J., Little, D.C., Dalsgaard, A., & Van den Brink, P.J. 2013. Use of veterinary medicines, feed additives and probiotics in four major internationally traded aquaculture species farmed in Asia. *Aquaculture*, 412-413. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.07.028
- Ringo, E., Van Doan, H., Lee, S.H., Soltani, M., Hoseinifar, S.H., Harikrishnan, R., & Song, S.K. 2020. Probiotics, lactic acid bacteria and bacilli: Interesting supplementation for aquaculture. *Journal of Applied Microbiology*, 129: 116-136. <https://doi.org/10.1111/jam.14628>
- Sunatmo, T.I. 2007. *Eksperimen Mikrobiologi dalam Laboratorium*. Jakarta: Ardy Agency.
- Suriawan, A., Efendi, S., Asmoro, S., & Wiyana, J. 2019. Sistem budidaya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pada tambak HDPE dengan sumber air bawah tanah salinitas tinggi di Kabupaten Pasuruan. *Jurnal Perencanaan Budidaya Air Payau dan Laut*, 1(14): 6-14.
- Sutrisna, R. 2013. Karakteristik Isolat Bakteri Asam Laktat dari Usus Itik Terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella pullorum*. Makalah. Disajikan dalam Seminar Nasional Sains dan Teknologi V oleh Lembaga Penelitian Universitas Lampung.

- Suwito, Widodo. 2010. Bakteri yang Sering Mencemari Susu: Deteksi, Patogenesis, Epidemiologi, dan Cara Pengendaliannya. *Jurnal Litbang Pertanian*, 29(3): 96-100.
- Todorov SD, Dicks LMT (2004). Comparison of two methods for purification of plantaricin ST31, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* ST31. *Microbiology Technology*, 36: 318-326.
- Trimudita, F, R., Djaenudin. 2021. Enkapsulasi Probiotik *Lactobacillus* sp. Menggunakan Dua Tahap Proses. *Serambi Engineering*, IV(2): 1832-1841.
- Ulfa, A., Suarsini, E., al Muhshar, M. H. I. 2016. Isolation and Mercury Sensitivity Test of Bacterias Isolated from Waste Disposal in Gold Mining Area in West Sekotong of West Lombok Region: Preliminary Study. *Proceeding Biology Education Conference*, 13(1): 793-799.
- Van Doan, H., Hoseinifar, S.H., Ringø, E., Esteban, M.Á., Dadar, M., & Dawood, M.A.O. 2019. Host-associated probiotics: A key factor in sustainable aquaculture. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*.