

Pengaruh kombinasi mikroorganisme sebagai probiotik dalam pakan terhadap kinerja pertumbuhan, laju pengosongan lambung, dan kadar glukosa darah ikan bandeng, *Chanos chanos* (Forsskal, 1775)

[The effect of microorganisms combination as probiotics in feed for growth performance, gastric evacuation rates, and blood glucose levels of milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal, 1775)]

Siti Aslamyiah*, Zainuddin¹ & Badraeni¹

¹ Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin, Jalan Perintis Kemerdekaan Km X, Tamalanrea, Makassar 90245 Telp./Faks. 0411-586025
siti.aslamyiah1@gmail.com / siti.aslamyiah@unhas.ac.id

Diterima: 19 November 2021; Disetujui: 25 Februari 2022

Abstrak

Pemanfaatan kombinasi mikroorganisme sebagai aditif pakan dapat saling bersinergi menghasilkan enzim untuk membantu proses pencernaan pakan. Penelitian ini bertujuan menentukan kombinasi mikroorganisme terbaik sebagai probiotik dalam pakan terhadap kinerja pertumbuhan, laju pengosongan lambung, dan kadar glukosa darah ikan bandeng. Ikan bandeng dengan bobot awal $9,21 \pm 0,14$ g dipelihara dengan kepadatan 20 ekor pada akuarium berukuran $50 \times 40 \times 35$ cm³ yang berisi 48 L air bersalinitas 20 ppt dan dilengkapi sistem resirkulasi. Penelitian didesain dalam rancangan acak lengkap dengan lima perlakuan, yaitu: kontrol (pakan tanpa mikroorganisme), *Bacillus* sp. dan *Lactobacillus* sp., *Rhizophus* sp. dan *Aspergillus* sp., *Saccharomyces* sp. dan *Trichoderma* sp., serta kombinasi mikroorganisme *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Rhizophus* sp., *Aspergillus* sp., *Saccharomyces* sp., dan *Trichoderma* sp. Selama 50 hari pemeliharaan, ikan diberi pakan percobaan 3 kali sehari yakni pukul 07.00, 12.00, dan 15.00 sebanyak 5% dari bobot badan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan, efisiensi pakan, dan indeks hepatosomatik. Namun, tidak berpengaruh terhadap sintasan, kadar glikogen hati dan otot ikan bandeng. Pertumbuhan mutlak ($30,79 \pm 0,87$ g), laju pertumbuhan relatif ($333,91 \pm 5,83\%$), pertumbuhan biomassa ($615,76 \pm 17,48\%$), efisiensi pakan ($57,26 \pm 0,39\%$), dan indeks hepatosomatik ($0,99 \pm 0,01$) terbaik diperoleh pada perlakuan kombinasi mikroorganisme dan terendah pada kontrol. Kisaran sintasan yang dihasilkan 93,33-100%, glikogen hati 6,60-6,89 mg/g, dan otot 5,45-5,72 mg/g. Laju pengosongan lambung, serta mencapai puncak dan penurunan puncak kadar glukosa darah tercepat pada perlakuan kombinasi mikroorganisme pada jam ke 5 dan jam ke 3-4 *post prandial*. Untuk mendukung intensifikasi budidaya ikan bandeng, kombinasi mikroorganisme dapat ditambahkan dalam pakan dengan dosis 10 mL/kg pakan.

Kata penting: mikroorganisme, probiotik, pakan, pertumbuhan, ikan bandeng

Abstract

The use of combinations of microorganisms as feed additives can synergize to produce enzymes to help the digestive process of feed. This study aims to determine the best combination of microorganisms as probiotics in feeding on growth performance, gastric evacuation, and blood glucose levels of milkfish. Milkfish with an initial weight of 9.21 ± 0.14 g, reared at a density of 20 fish in an aquarium measuring $50 \times 40 \times 35$ cm³ containing 48 L of water with 20 ppt salinity and equipped with a recirculation system. The research design was Completely Randomized Design with five treatments, namely: control (feed without microorganisms), *Bacillus* sp. and *Lactobacillus* sp., *Rhizophus* sp. and *Aspergillus* sp., *Saccharomyces* sp. and *Trichoderma* sp., and Mixed microorganisms, *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Rhizophus* sp., *Aspergillus* sp., *Saccharomyces* sp., and *Trichoderma* sp. During 50 days of rearing, the fish were given experimental feed three times a day at 07.00, 12.00, and 15.00 at 5% body weight. The results showed that the treatment significantly affected growth, feed efficiency, and hepatosomatic index. However, it did not affect milkfish's survival and liver and muscle glycogen levels. Absolute growth (30.79 ± 0.87 g), relative growth rate ($333.91 \pm 5.83\%$), biomass growth ($615.76 \pm 17.48\%$), feed efficiency ($57.26 \pm 0.39\%$), and the

best hepatosomatic index (0.99 ± 0.01) were obtained in the mixed microorganism treatment, and mg/g, and muscle 5.45-5.72 mg/g. The gastric evacuation rate and the fastest peak and peak decrease in blood glucose levels were obtained in the mixed microorganisms treatment at 5 and 3-4 hours postprandial. The diverse microorganisms can be added to the feed at a dose of 10 mL/kg to support the intensification of milkfish culture.

Keywords: Microorganisms, probiotics, feed, growth, milkfish

Pendahuluan

Salah satu komoditas perikanan yang memiliki nilai ekonomis penting sebagai ikan konsumsi adalah ikan bandeng (*Chanos chanos* Forsskal). Hal ini didukung oleh rasa daging yang enak dan nilai gizi yang tinggi sehingga memiliki tingkat konsumsi yang tinggi. Selain sebagai ikan konsumsi ikan bandeng juga dipakai sebagai umpan hidup pada usaha penangkapan ikan tuna (Syamsuddin 2010). Sebagai komoditas unggulan di sektor perikanan, diperlukan usaha pembudidayaan ikan bandeng secara intensif. Usaha intensifikasi ikan bandeng, menuntut ketersediaan pakan baik secara kuantitas maupun kualitas, karena merupakan salah satu faktor penting dalam kegiatan budidaya sebagai penentu pertumbuhan kultivan. Namun demikian, penyediaan pakan merupakan biaya terbesar dalam usaha budidaya yang dapat mencapai 60-70% dari total biaya produksi. Upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan kualitas dan menekan proporsi biaya pakan pada usaha budidaya dengan pemberian aditif pakan. Encarnação (2016) mengemukakan berbagai aditif pakan, seperti acidifier, enzim eksogen, probiotik, prebiotik, fitogenik, dan stimulan imun dapat ditambahkan dalam pakan fungsional, sehingga dapat meningkatkan efisiensi pakan, per-

tumbuhan, produktivitas, kesehatan ikan, serta aman bagi kesehatan manusia yang dikonsumsi.

Sebagai salah satu aditif pakan yang sering diaplikasikan dalam sistem akuakultur, probiotik berperan penting menentukan tingkat keberhasilan budidaya. Hal ini karena probiotik dalam pakan akan berpengaruh terhadap pencernaan sehingga membantu proses penyerapan makanan. Menurut Wang *et al.* (2008) probiotik dapat menghasilkan enzim yang mampu mengurai senyawa kompleks menjadi sederhana. Dalam meningkatkan nutrisi pakan, probiotik dapat menghasilkan enzim untuk pencernaan pakan seperti amilase, protease, lipase dan selulase. Menurut Sakamole *et al.* (2014), probiotik dapat berperan untuk menekan mikroorganisme patogen usus dan memperbaiki efisiensi pakan dengan melepas enzim-enzim yang membantu proses pencernaan pakan. Menurut Shitandi *et al.* (2007) dan Dommels *et al.* (2009), probiotik memanfaatkan mikroorganisme hidup dengan memberikan keuntungan bagi hewan inang yang mengkonsumsinya, dengan cara memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal pada saat masuk ke dalam saluran pencernaan. Cruz *et al.* (2012) mengatakan mikroorganisme bersaing dalam saluran pencernaan mencegah patogen

mengambil nutrisi yang diperlukan ikan. Probiotik yang umum digunakan adalah dari golongan bakteri, fungi, dan ragi.

Pemanfaatan probiotik sebagai aditif pakan pada budidaya ikan telah dilaporkan oleh Aslamyiah (2006) bahwa kandidat probiotik *Carnobacterium* sp. dapat meningkatkan efisiensi pakan ikan bandeng sekitar 20%. Aslamyiah *et al.* (2011) menggunakan probiotik *Bacillus* sp. dan *Carnobacterium* sp. dengan dosis 10^8 CFU/100 g pakan terbaik meningkat laju metabolisme ikan gurame. Ramadhana *et al.* (2012) melaporkan pakan yang mengandung 7% *Lactobacillus* sp. menunjukkan nilai pencernaan pakan tertinggi sebesar 68,09%, diikuti 5% sebesar 64,99%, dan 3% sebesar 63,26%. Keadaan ini disebabkan probiotik tersebut dapat meningkatkan jumlah bakteri dalam mukosa usus ikan nila. Aslamyiah *et al.* (2015) menggunakan probiotik *Lactobacillus* sp. dengan dosis 10^{10} CFU/100 g pakan terbaik meningkat laju metabolisme ikan bandeng.

Probiotik dengan jenis mikroorganisme lebih banyak diharapkan saling bersinergi untuk menghasilkan enzim-enzim khusus pada masing-masing mikroorganisme. Enzim-enzim tersebut bersama dengan enzim pencernaan endogen akan melakukan proses pencernaan untuk mengkatalisis molekul-molekul kompleks dari pakan, seperti karbohidrat, protein, dan lemak menjadi molekul yang lebih sederhana dan siap diserap ke dalam sel tubuh. Chilmawati *et al.* (2018) melaporkan pakan yang dicampur probiotik dengan komposisi jamur, yaitu *Saccharo-*

myces cerevisiae, *Aspergillus oryzae*, dan bakteri, yaitu *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis*, *Rhodopseudomonas*, *Actinomyces*, dan *Nitrobacter* memberikan pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan bandeng yang lebih tinggi dibandingkan kontrol.

Percobaan probiotik sebagai aditif pakan dengan campuran mikroorganisme dari golongan bakteri, yaitu *Bacillus* sp. dan *Lactobacillus* sp., fungi, yaitu *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp., dan *Trichoderma* sp., serta ragi, yaitu *Saccharomyces* sp. belum ditemukan. Berdasarkan hal tersebut dilakukan penelitian dengan menentukan kombinasi mikroorganisme terbaik sebagai probiotik dalam pakan terhadap kinerja pertumbuhan, laju pengosongan lambung, dan kadar glukosa darah ikan bandeng.

Bahan dan metode

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai dengan Juli 2021 di Laboratorium Teknologi Pembenihan dan beberapa kegiatan tambahan dilakukan di Laboratorium Nutrisi dan Teknologi Pakan, serta Laboratorium Produktivitas dan Kualitas Air, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin.

Penelitian didesain dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan setiap perlakuan masing-masing mempunyai 3 ulangan. Dengan demikian penelitian ini terdiri atas 15 satuan percobaan. Perlakuan yang diujikan, yaitu berbagai kombinasi mikroorganisme sebagai probiotik dalam pakan ikan bandeng, yaitu A. Kontrol

Tabel 1 Komposisi (% berat kering) bahan baku dan hasil analisis proksimat pakan

Bahan Baku	Komposisi (%)
Tepung ikan	26
Tepung kedelai	22
Tepung bungkil kelapa	16
Tepung jagung	18
Tepung pollard	10
Lemak ^{*)}	4
Vitamin mineral mix ^{**)}	4
Total	100
Protein	26,43
Lemak	8,37
Abu	24,22
Serat kasar	7,45
BETN	33,53
DE (kkal/kg) ^{***)}	2627,52
C/P (DE/g Protein)	9,94

Keterangan :

^{*)} Minyak ikan dan minyak jagung = 2:1

^{**)} Komposisi vitamin & mineral mix. Setiap 10 kg mengandung Vitamin A 12.000.000 IU, Vitamin D 2.000.000 IU, Vitamin E 8.000 IU, Vitamin K 2.000 mg, Vitamin B₁ 2.000 mg, Vitamin B₂ 5.000, Vitamin B₆ 500 mg, Vitamin B₁₂ 12.000 µg, Asam askorbat 25.000 mg, Calcium-D-Phantothenate 6.000 mg, Niacin 40.000 mg, Cholin Chloride 10.000 mg, Methionine 30.000 mg, Lisin 30.000 mg, Manganese 120.000 mg, Iron 20.000 mg, Iodine 200 mg, Zinc 100.000 mg, Cobalt 200.000 mg, Copper 4.000 mg, Santoquin (antioksidan) 10.000 mg, Zinc bacitracin 21.000 mg.

^{***)} Hasil perhitungan berdasarkan persamaan energi (NRC 1988): 1 g karbohidrat = 2,5 kkal DE, 1 g protein = 3,5 kkal DE, 1 g lemak = 8,1 kkal DE

(pakan tanpa mikroorganisme) *B. Bacillus* sp. dan *Lactobacillus* sp., *C. Rhizophus* sp. dan *Aspergillus* sp., *D. Saccharomyces* sp. dan *Trichoderma* sp., dan E. Campuran *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Rhizophus* sp., *Aspergillus* sp., *Saccharomyces* sp., dan *Trichoderma* sp.

Pakan yang digunakan adalah pakan buatan berbentuk pellet dengan komposisi bahan baku pakan dan hasil analisis proksi-

mat pakan disajikan pada Tabel 1. Pakan ditambahkan mikroorganisme sesuai dengan perlakuan. Mikroorganisme yang digunakan diperoleh dari koleksi Laboratorium Bioteknologi Penelitian, Pusat Kegiatan Penelitian (PKP), Universitas Hasanuddin. *Bacillus* sp. dan *Lactobacillus* sp. diisolasi dari saluran pencernaan ikan bandeng, *Rhizophus* sp. dan *Aspergillus* sp. starter awal diambil dari ragi pembuatan tempe, *Saccharomyces* sp. diam-

bil dari ragi roti, sedangkan *Trichoderma* sp. diisolasi dari tanah yang diambil di areal sawah (Aslamyiah 2006, Aslamyiah *et al.* 2015, Aslamyiah *et al.* 2017, Aslamyiah *et al.* 2018). Starter mikroorganisme sebelum digunakan disegarkan mengikuti metode Afrizal & Purwanto (2011) dengan beberapa modifikasi. Penyegaran dimulai dengan menyiapkan larutan substrat yang merupakan campuran 2 L air kelapa tua dan 500 g gula pasir. Selanjutnya diinokulasi dengan 2 mL starter mikroorganisme dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang.

Pencampuran mikroorganisme pada pakan mengacu pada metode Aslamyiah (2006). Kultur mikroorganisme diambil sebanyak 10 mL untuk 1 kg pakan dimasukkan dalam *sprayer*. Kemudian diencerkan dengan cairan fisiologis dan minyak ikan dengan perbandingan 1:3:1 dan dihomogenkan. Campuran tersebut disemprotkan pada pakan secara merata dan siap diberikan pada ikan.

Ikan bandeng ukuran yuwana dengan bobot rata-rata $9,00 \pm 0,20$ g diperoleh dari tambak penggondongan di Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan. Ikan dipelihara dalam akuarium kaca dengan ukuran panjang, lebar, dan tinggi masing-masing $50 \times 40 \times 35$ cm³ berjumlah 15 buah, yang didesain dengan sistem resirkulasi. Wadah-wadah tersebut ditutup dengan menggunakan waring besi dan setiap sisi akuarium ditutup dengan plastik hitam. Setiap wadah diisi dengan air salinitas 20 ppt sebanyak 48 L. Masing-masing wadah ditebar sebanyak 20 ekor ikan.

Aklimatisasi dilakukan untuk adaptasi pada media budidaya dan pakan uji yang diberikan secara satiasi selama seminggu. Selama aklimatisasi ikan uji diberi pakan kontrol dengan dosis dan frekuensi yang sama dengan perlakuan. Setelah masa aklimatisasi selesai, ikan uji dipuasakan selama 24 jam dengan tujuan menghilangkan sisa pakan dalam tubuh. Ikan dipelihara selama 50 hari dan diberi pakan 5% bobot badan per hari sebanyak 3 kali sehari, yaitu pada pukul 07.00, 12.00 dan 17.00. Selama percobaan, kualitas air media pemeliharaan dijaga dalam kisaran yang layak untuk kehidupan ikan bandeng, meliputi suhu, pH, salinitas, oksigen terlarut, karbondioksida, dan ammonia.

Peubah yang diamati adalah kinerja dan materi pertumbuhan, yang meliputi pertumbuhan bobot mutlak dan relatif, sintasan, dan efisiensi pakan, komposisi kimiawi tubuh ikan uji, yang meliputi kadar protein, lemak, BETN, serat kasar, abu dan energi, serta kadar glikogen hati dan otot, indeks hepatosomatik, laju pengosongan lambung, dan kadar glukosa darah.

Pertumbuhan

Pertumbuhan diukur dengan menimbang ikan uji pada setiap periode pengamatan 10 hari sampai akhir percobaan. Pertumbuhan mutlak dihitung dengan rumus Zonneveld *et al.* (1991) dan pertumbuhan relatif dihitung dengan rumus Takeuchi (1988).

$$PB = W_t - W_0$$

Keterangan:

PB : pertumbuhan mutlak (g)

W_0 : bobot ikan uji pada awal penelitian (g)

W_t : bobot ikan uji pada waktu t (g)

$$PR = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100$$

Keterangan:

PR : pertumbuhan relatif (%)

W_0 : bobot rata-rata ikan uji pada awal penelitian (g)

W_t : bobot rata-rata ikan uji pada waktu t (g)

Sintasan dihitung berdasarkan rumus:

$$S = \frac{N_t}{N_0} \times 100$$

Keterangan:

S : sintasan (%)

N_t : jumlah akhir ikan uji

N_0 : jumlah awal ikan uji

Efisiensi pakan dihitung berdasarkan rumus:

$$EP = \frac{(W_t + W_d) - W_0}{W_p}$$

Keterangan:

EP : Efisiensi pakan

W_t : berat total akhir (g)

W_d : berat yang mati selama penelitian (g)

W_p : jumlah pakan termakan (g)

W_0 : berat total awal (g)

Kadar glikogen pada hati dan otot

Ikan uji diukur pada akhir percobaan. Sampel yang digunakan sebanyak 5 ekor untuk masing-masing satuan percobaan pada awal dan akhir pemeliharaan. Keseluruhan hati diambil pada masing-masing sampel, sedangkan otot diambil dari bagian dorsal, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu

50°C selama 24 jam dan digerus sampai menjadi tepung. Prosedur analisis kadar glikogen mengikuti metode Wedemeyer & Yasutake (1977). Jaringan hati dan otot diambil sebanyak 100 mg dipanaskan dalam 3 mL KOH 30% sampai larut (20–30 menit), ditambahkan 0,5 mL Na₂SO₄ jenuh dan 3,5 mL ethanol 95%, dan dipanaskan sampai mendidih. Selanjutnya larutan didinginkan dan disentrifius dalam keadaan dingin, supernatan yang ada dibuang. Glikogen dilarutkan dalam 2 mL akuades dan kembali diendapkan dengan 2,5 mL ethanol 95%, kemudian supernatan dibuang dan glikogen diendapkan selama 30 menit dalam 2 mL HCl 5 M dalam *shaker water bath* yang sedang mendidih. Hidrolisat yang dinetralkan (berisi 15–150 µg glukosa) sebanyak 5 mL dipindahkan ke dalam tabung uji. Standar glukosa (111 µg) dituangkan sebanyak 5 mL ke dalam tabung uji kedua dan 5 mL akuades sebagai blanko ke dalam tabung uji ketiga. Tabung-tabung di atas dicelup ke dalam air dingin dan ditambahkan 10 mL reagent anthrone dan tabung ditutup dengan *marbless glass* dan dipanaskan selama 10 menit dalam air mendidih, kemudian didinginkan dan segera diukur absorbansi pada panjang gelombang 635 nm, dalam kolorimeter (1 g glikogen = 1,11 g glukosa dalam hidrolisat). Kadar glikogen sampel diukur menggunakan persamaan garis kurva standar glikogen.

Indeks hepatosomatik.

Indeks hepatosomatik dihitung dengan cara membandingkan bobot hati dengan bo-

bot ikan. Sampel yang diamati sebanyak 5 ekor untuk masing-masing satuan percobaan pada awal dan akhir pemeliharaan. Pertama-tama ikan ditimbang bobotnya, setelah itu ikan dibedah diatas permukaan es. Pembunuhan dilakukan dengan hati-hati dan secepat mungkin, selanjutnya hati ditimbang. Nilai indeks heptosomatik dihitung berdasarkan persamaan Kindom & Alisson (2010) berikut:

$$IH = \frac{HP}{W} \times 100$$

Keterangan:

IH : Indeks heptosomatik

HP : bobot heptosomatik (g)

W : bobot ikan (g)

Laju pengosongan lambung

Pengamatan laju pengosongan lambung (LPL) dilakukan pada akhir penelitian. Adapun metode pengukuran mengikuti prosedur yang dilakukan oleh Lee *et al.* (2000) yang telah dimodifikasi. Ikan bandeng dipuasakan selama 24 jam, selanjutnya diberi pakan sampai kenyang. Kemudian ikan uji dipindahkan ke baskom besar dan di aerasi. Pengambilan isi lambung dilakukan setelah pemberian pakan, selanjutnya pengambilan isi lambung dilakukan setiap interval waktu satu jam. Jumlah sampel yang diamati pada setiap interval waktu sebanyak 3 ekor pada masing-masing perlakuan. Pengambilan isi lambung dihentikan setelah lambung ikan uji kosong. Persentase pakan dalam saluran pencernaan dihitung dengan rumus:

$$\%LPL = \frac{\text{Pakan dalam lambung}}{\text{Pakan yang dimakan}} \times 100$$

Kadar glukosa darah

Pengamatan kadar glukosa darah ikan uji dilakukan pada akhir penelitian. Ikan bandeng dipuasakan selama 24 jam selanjutnya diberi pakan sampai kenyang. Ikan uji dipindahkan ke dalam wadah berupa baskom besar dan di aerasi. Pengambilan darah ikan uji dimulai pada jam ke 0 dan jam ke 1, 2, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 16, dan 20 *post prandial*. Jumlah sampel yang diamati pada setiap interval waktu sebanyak 3 ekor pada masing-masing perlakuan. Sampel darah ikan uji diambil dari insang dan vena caudal dengan menggunakan spuit bervolume 1 mL. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan metode strip menggunakan *Onetouch Ultra Plus Flex SET Glukometer*.

Data yang diperoleh pada penelitian ini dianalisis dengan menggunakan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji W Tuckey pada taraf uji 5% dengan bantuan program SPSS 12,0 sedangkan data kadar glukosa darah dan laju pengosongan lambung dianalisis secara deskriptif.

Hasil

Kombinasi mikroorganisme berbeda sebagai probiotik dalam pakan ikan bandeng berpengaruh ($P < 0,05$) terhadap pertumbuhan mutlak, laju pertumbuhan relatif, dan pertumbuhan biomassa, efisiensi pakan, dan indeks heptosomatik, namun tidak berpengaruh ($P > 0,05$) pada sintasan, serta kadar glikogen hati dan otot (Tabel 2 dan 3). Pertumbuhan mutlak, laju pertumbuhan relatif, dan pertum-

Tabel 2 Pertumbuhan mutlak dan laju pertumbuhan relatif, sintasan, dan efisiensi pakan ikan bandeng yang diberi pakan dengan suplementasi berbagai kombinasi mikroorganisme

Perlakuan	Pertumbuhan Mutlak (g)	Pertumbuhan Relatif (%)	Pertumbuhan Biomassa (g)	Sintasan (%)	Efisiensi Pakan (%)
A (Kontrol)	17,68 ± 0,99 ^a	194,01 ± 7,78 ^a	316,97 ± 12,15 ^a	93,33 ± 5,77 ^a	42,85 ± 0,38
B (B & L)	26,46 ± 1,31 ^b	285,31 ± 21,15 ^b	493,84 ± 52,29 ^{ab}	95,00 ± 5,00 ^a	52,74 ± 2,02
C (R & A)	25,45 ± 1,07 ^b	277,23 ± 9,99 ^b	486,60 ± 56,83 ^{ab}	96,67 ± 5,77 ^a	52,12 ± 1,37
D (S & T)	25,51 ± 0,87 ^b	274,81 ± 10,89 ^b	464,62 ± 68,76 ^b	93,33 ± 7,64 ^a	51,61 ± 1,88
E (M.Mix.)	30,79 ± 0,87 ^c	333,91 ± 5,83 ^c	615,76 ± 17,48 ^c	100 ± 00 ^a	57,26 ± 0,38

Keterangan:

Nilai rata-rata ± simpangan baku

Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata antarperlakuan pada taraf 5% (p<0,05)

A Kontrol (pakan tanpa mikroorganisme),

B (B & L) : *Bacillus* sp. dan *Lactobacillus* sp.,

C (R & A) : *Rhizopus* sp. dan *Aspergillus* sp.,

D (S & T) : *Saccharomyces* sp. dan *Trichoderma* sp., dan

E Mikroorganisme mix.: *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp., *Saccharomyces* sp., dan *Trichoderma* sp.

Tabel 3 Kadar glikogen hati dan otot, serta indeks hepatosomatik ikan bandeng yang diberi pakan dengan suplementasi berbagai kombinasi mikroorganisme

Perlakuan	Kadar Glikogen (mg/g)		Indeks Hepatosomatik (%)
	Hati	Otot	
Awal	5,48±0,08	4,67±0,06	0,67±0,03
A (Kontrol)	6,65±0,11 ^a	5,72±0,09 ^a	0,82±0,07 ^a
B (B & L)	6,89±0,09 ^a	5,46±0,16 ^a	0,98±0,02 ^b
C (R & A)	6,66±0,20 ^a	5,56±0,07 ^a	0,94±0,04 ^b
D (S & T)	6,76±0,16 ^a	5,45±0,15 ^a	0,96±0,03 ^b
E (M.Mix.)	6,60±0,22 ^a	5,70±0,07 ^a	0,99±0,01 ^b

Keterangan:

Nilai rata-rata ± simpangan baku

Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata antarperlakuan pada taraf 5% (p<0,05)

A Kontrol (pakan tanpa mikroorganisme),

B (B & L) : *Bacillus* sp. dan *Lactobacillus* sp.,

C (R & A) : *Rhizopus* sp. dan *Aspergillus* sp.,

D (S & T) : *Saccharomyces* sp. dan *Trichoderma* sp., dan

E Mikroorganisme mix.: *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp., *Saccharomyces* sp., dan *Trichoderma* sp.

buhan biomassa, efisiensi pakan, dan indeks hepatosomatik tertinggi ditunjukkan ikan bandeng yang mendapat perlakuan kombinasi mikroorganisme campuran *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp.,

Saccharomyces sp. dan *Trichoderma* sp. dan berbeda nyata (P<0,05) dengan perlakuan lainnya.

Hal yang sama ditunjukkan pada hasil analisis laju pengosongan lambung dan kadar

Tabel 4 Nilai rata-rata laju pengosongan lambung ikan bandeng (%) setiap periode pengamatan pada berbagai kombinasi mikroorganisme dalam pakan

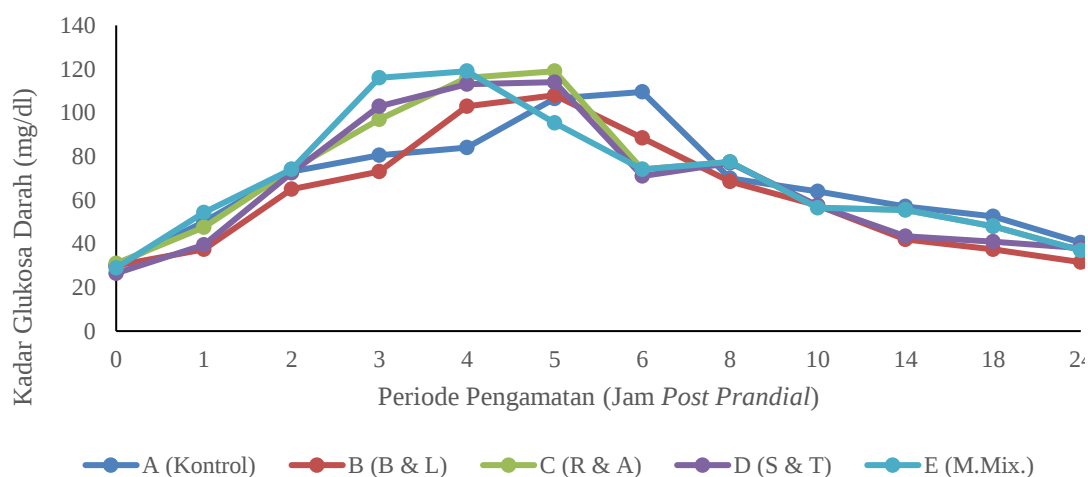
Perlakuan	Rata-Rata Laju Pengosongan lambung (%) $\pm$ std					
	Post prandial (jam)					
	1	2	3	4	5	6
A (Kontrol)	87,60 $\pm$ 0,27	69,05 $\pm$ 4.40	41,60 $\pm$ 5,75	31,01 $\pm$ 0,91	7.57 $\pm$ 2,15	tt
B (B & L)	78,30 $\pm$ 2,76	60,16 $\pm$ 2.80	38,26 $\pm$ 3,58	21,25 $\pm$ 1,31	5,96 $\pm$ 2,47	tt
C (R & A)	83,51 $\pm$ 2,29	59,82 $\pm$ 2.44	33,67 $\pm$ 1,64	15,02 $\pm$ 3,82	7,39 $\pm$ 2,45	tt
D (S & T)	84,03 $\pm$ 5,24	57,18 $\pm$ 2.31	36,06 $\pm$ 1,663	15,86 $\pm$ 2,69	8,71 $\pm$ 2,61	tt
E (M.Mix.)	75,67 $\pm$ 10,56	52.40 $\pm$ 4,16	32,30 $\pm$ 5,61	13,09 $\pm$ 2,35	tt	tt

Keterangan:

Nilai rata-rata $\pm$ simpangan baku

tt (tidak tersedia)

A Kontrol (pakan tanpa mikroorganisme),

B (B & L) : *Bacillus* sp. dan *Lactobacillus* sp.,C (R & A) : *Rhizopus* sp. dan *Aspergillus* sp.,D (S & T) : *Saccharomyces* sp. dan *Trichoderma* sp., danE Mikroorganisme mix.: *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp., *Saccharomyces* sp., dan *Trichoderma* sp.**Gambar 1** Grafik rata-rata kadar glukosa darah pada periode pengamatan (jam post prandial) ikan bandeng pada berbagai kombinasi mikroorganisme dalam pakan

glukosa darah ikan bandeng. Laju pengosongan lambung dicapai pada periode waktu yang sama pada setiap perlakuan, yaitu pada jam ke 6 *post prandial*, kecuali pada perlakuan kombinasi mikroorganisme campuran *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp., *Saccharomyces* sp., dan *Tri-*

choderma sp. pada pada jam ke 5 *post prandial* (Tabel 4). Pada Gambar 1 terlihat kadar glukosa darah ikan bandeng segera meningkat setelah ikan mengkonsumsi sejumlah pakan dan menurun kembali setelah mencapai puncak. Perlakuan kombinasi mikroorganisme campuran *Bacillus* sp., *Lacto-*

Bacillus sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp., *Saccharomyces* sp., dan *Trichoderma* sp. mencapai titik puncak dan permulaan turunnya puncak kadar glukosa darah tercepat, yaitu pada jam ke 3-4 *post prandial* dan yang terlambat adalah pada perlakuan kontrol (pakan tanpa mikroorganisme), yaitu pada jam ke 6 *post prandial*. Tiga perlakuan lainnya, yaitu kombinasi mikroorganisme *Bacillus* sp. dan *Lactobacillus* sp., *Rhizopus* sp. dan *Aspergillus* sp., serta *Saccharomyces* sp., dan *Trichoderma* sp. mencapai titik puncak dan permulaan turunnya puncak kadar glukosa darah pada jam ke 5 *post prandial*.

Pembahasan

Kombinasi mikroorganisme campuran *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp., *Saccharomyces* sp., dan *Trichoderma* sp. memberikan kinerja pertumbuhan tertinggi (Tabel 2 dan 3). Hal ini terjadi karena masing-masing mikroorganisme saling bersinergi untuk menghasilkan beberapa enzim pencernaan, seperti amilase, protease, dan lipase. Enzim-enzim tersebut bersama dengan enzim pencernaan endogen akan melakukan proses pencernaan untuk mengkatalisis molekul-molekul kompleks dari pakan, seperti karbohidrat, protein dan lemak menjadi molekul yang lebih sederhana dan siap diserap ke dalam sel tubuh. Disamping itu, campuran mikroorganisme tersebut juga dapat menghasilkan enzim selulase yang melakukan penguraian serat dan memecah dinding sel bahan pakan sumber nabati. Menurut Zhang *et al.* (2006) selulase yang

diproduksi oleh jamur berfilamen, ragi, dan bakteri terlibat dalam degradasi serat selulosa menjadi gula larut seperti glukosa, selobiosa, dan oligomer lainnya. Mikroorganisme yang mengekskresikan selulase memainkan peran penting di alam, karena kemampuannya untuk menguraikan residu lignoselulosa, membentuk mata rantai kunci dalam siklus karbon.

Sebaliknya pada perlakuan kombinasi mikroorganisme lainnya, merupakan campuran 2 jenis mikroorganisme, yaitu *Bacillus* sp. dan *Lactobacillus* sp., *Rhizopus* sp. dan *Aspergillus* sp., *Saccharomyces* sp., dan *Trichoderma* sp., sebagai probiotik memberikan hasil yang sama pada semua parameter yang diamati dan lebih rendah dari perlakuan kombinasi mikroorganisme campuran. Hal ini diduga kurang maksimalnya enzim yang dihasilkan, baik enzim pencernaan, seperti amilase, protease, dan lipase maupun enzim selulase.

Bacillus sp. termasuk bakteri yang mampu menghasilkan enzim protease. Enzim tersebut berperan dalam hidrolisis protein menjadi asam amino (Putri *et al.* 2012). Arief (2013) mengemukakan bakteri *Lactobacillus* sp. adalah bakteri asam laktat yang berperan dalam menyeimbangkan mikroba saluran pencernaan. Mikroba tersebut dapat meningkatkan daya cerna ikan dengan cara mengubah karbohidrat menjadi asam laktat yang dapat menurunkan pH. Penurunan pH dapat merangsang produksi enzim endogenous untuk meningkatkan penyerapan nutrisi, konsumsi pakan, pertumbuhan dan menghalangi

organisme patogen. Menurut Ikram *et al.* (2005) *Aspergillus* sp., dan *Trichoderma* sp. penghasil enzim selulase yang sangat kuat. Selulase mampu mengurai selulosa secara acak menjadi selulo-oligosakarida atau selulodekstrin dan juga eksoselulosa yang memecah selulo-oligosakarida menjadi selulobiosa yang akan dipecah menjadi glukosa (Putri *et al.*, 2012). *Rhizopus* sp. ini memiliki kemampuan menghasilkan enzim dengan karakteristik proteolitik dan selulotik. Jamur tersebut dapat meningkatkan kandungan protein kasar serta menurunkan kandungan serat kasar dengan enzim protease dan selulase yang diproduksinya (Steinkraus, 1983). Selanjutnya dijelaskan bahwa *Saccharomyces* sp. yang dapat mengurai ikatan selulosa menjadi glukosa dan secara tidak langsung dapat menurunkan kandungan serat kasar melalui aktifitas sekunder khamir tersebut.

Keberadaan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme tersebut membantu mempercepat proses pencernaan dan penyerapan nutrisi ke dalam tubuh. Dengan demikian ketersediaan nutrisi tersebut dapat menjadi sumber energi dan materi untuk pertumbuhan ikan bandeng. Menurut Sakamole *et al.* (2014) probiotik bermanfaat dalam menghalangi mikroorganisme patogen usus dan memperbaiki efisiensi pakan dengan melepas enzim-enzim yang membantu proses pencernaan makanan. Pemberian probiotik mampu menghasilkan benih berkualitas dengan upaya meningkatkan fungsi fisik ikan terutama kemampuan dalam mencerna pakan. Khasani (2007) mengemukakan bahwa pe-

nambahan mikroba hidup yang memiliki pengaruh menguntungkan bagi inang melalui modifikasi bentuk asosiasi dengan inang atau komunitas mikroba lingkungan hidupnya, meningkatkan nilai nutrisi pakan dan meningkatkan kualitas air. Pemberian probiotik dalam pakan akan berpengaruh terhadap kecepatan hidrolisis pakan dalam saluran pencernaan, sehingga akan sangat membantu proses penyerapan makanan dalam pencernaan ikan. Hidrolisis pakan mampu mengurai senyawa kompleks menjadi sederhana sehingga siap digunakan ikan, dan sejumlah mikroorganisme mampu mensintesa vitamin dan asam-asam amino yang dibutuhkan oleh hewan akuatik. Hasil yang sama dilaporkan Chilmawati *et al.* (2018), bahwa pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan bandeng lebih tinggi setelah mengkonsumsi pakan mengandung probiotik campuran *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus oryzae*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis*, *Rhodopseudomonas*, *Actinomycetes*, dan *Nitrobacter*.

Kontribusi enzim dari probiotik yang ditambahkan dibuktikan pada analisis laju pengosongan lambung (Tabel 4). Kombinasi mikroorganisme campuran mempercepat laju pengosongan lambung menjadi pada jam ke-5 *post prandial*, dibandingkan kontrol dan kombinasi perlakuan lainnya pada jam ke-6 *post prandial*. Meningkatnya laju pengosongan lambung mengindikasikan kecepatan proses pencernaan pakan dalam saluran pencernaan. Produk dari pencernaan adalah mikronutrien, salah satunya adalah glukosa yang siap diserap ke dalam darah untuk

selanjutnya ke dalam sel. Puncak dan permulaan turunnya puncak kadar glukosa darah tercepat pada jam ke 3-4 *post prandial* yang ditunjukkan perlakuan campuran *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp., *Saccharomyces* sp., dan *Trichoderma* sp. Keberadaan berbagai mikroorganisme dapat memaksimalkan proses hidrolisis enzimatis pada saluran pencernaan, sehingga peningkatan kadar glukosa darah berlangsung cepat. Menurut Zonneveld *et al.*, (1991) pencernaan adalah proses penyederhanaan molekul-molekul kompleks dalam pakan menjadi lebih sederhana, meliputi hidrolisis protein menjadi asam-amino atau polipeptida sederhana, karbohidrat menjadi gula sederhana, dan lipid menjadi gliserol dan asam lemak. Molekul sederhana ini mudah diserap pada saluran pencernaan dan masuk ke dalam aliran darah. Hidrolisis nutrisi makro dimungkinkan dengan adanya enzim pencernaan seperti protease, karboksilase, lipase, dan selulase.

Peningkatan proses pencernaan dapat mengurangi bagian dari pakan yang tidak tercerna dan terbuang sebagai feces. Selanjutnya ketersediaan nutrisi sederhana yang tinggi dalam saluran pencernaan merupakan pemicu proses penyerapan ke dalam darah dan selanjutnya ke dalam sel. Peningkatan penyerapan yang tinggi pada perlakuan kombinasi mikroorganisme campuran dapat dilihat pada pengukuran indeks hepatosomatik (Tabel 2). Menurut Yandes *et al.* (2003) peningkatan indeks hepatosomatik menunjukkan peningkatan jumlah nutrisi yang

diserap, sehingga jumlah nutrisi yang terakumulasi pada hati meningkat. Wahyuningtyas *et al.* (2018) mengemukakan bahwa nilai indeks hepatosomatik perlu diketahui karena hati secara umum berfungsi sebagai metabolisme nutrisi dan zat lain yang masuk ke dalam tubuh serta tempat memproduksi cairan empedu.

Hasil yang sama dilaporkan oleh Aslamyah *et al.* (2018), bahwa laju pengosongan lambung, serta pencapaian puncak dan permulaan turunnya puncak kadar glukosa darah ikan bandeng tercepat pada jam ke 6 dan jam ke 3-4 *post prandial* setelah diberi pakan berbahan rumput laut fermentasi. Aslamyah (2006) mengemukakan bahwa glukosa merupakan produk hidrolisis enzimatis karbohidrat pakan diserap di usus halus masuk ke aliran darah. Kadar glukosa dalam darah, adalah hasil perimbangan sesaat (resultan) antara laju penyerapan glukosa dari saluran pencernaan ke dalam aliran darah dan laju pemasukkan glukosa darah ke dalam sel pada proses metabolisme karbohidrat. Kadar glukosa darah yang terus meningkat mengindikasikan adanya aliran glukosa ke dalam darah yang lebih besar dibandingkan pemasukan glukosa darah ke dalam sel. Sebaliknya, kadar glukosa akan menurun apabila aliran glukosa ke dalam darah lebih rendah dibandingkan pemasukkan glukosa darah ke dalam sel. Dengan demikian, puncak kadar glukosa darah terjadi saat aliran glukosa ke dalam darah dan pemasukan glukosa darah ke dalam sel mencapai titik keseimbangan. Matthews *et al.* (2003) menyatakan tingginya

metabolit dalam darah memicu bioaktivitas insulin pada tingkat tertinggi, sehingga pemasukan glukosa darah ke dalam sel berlangsung dengan cepat dan kadar glukosa dalam darah segera menurun. Untuk memenuhi kebutuhan energi, glukosa yang telah masuk ke dalam sel akan segera dimetabolisme, sehingga dapat menghindari penggunaan sejumlah asam amino sebagai sumber energi metabolik. Dengan demikian, kondisi ini dapat meningkatkan pertumbuhan dan deposisi materi pertumbuhan, seperti protein dan lemak.

Sintasan, serta kadar glikogen hati dan otot yang sama pada setiap perlakuan kombinasi mikroorganisme disebabkan karena ikan uji mendapat kualitas nutrisi pakan yang sama dan sesuai dengan kebutuhan ikan bandeng (Tabel 1). Disamping itu, kualitas media pemeliharaan juga berada pada kisaran yang layak untuk sintasan ikan bandeng. Kualitas air yang diperoleh selama penelitian, yaitu suhu berkisar dari 26–31°C, salinitas 20-25 ppt, pH 6,8-7,1 dan oksigen terlarut 4,7-5,6 ppm, karbondioksida 2,37-3,56 mg/L, serta ammonia 0,003-0,004 mg/L.

Simpulan

Suplementasi probiotik dalam pakan efektif meningkatkan performa pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan bandeng. Kombinasi mikroorganisme yang terdiri atas *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp., *Saccharomyces* sp., dan *Trichoderma* sp. merupakan probiotik yang paling efektif dalam meningkatkan kinerja pertum-

buhan, efisiensi pakan, laju pengosongan lambung, dan kadar glukosa darah ikan bandeng.

Persantunan

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah membiayai penelitian ini melalui Skim PENELITIAN TERAPAN BRIN Tahun Anggaran 2021, Nomor Kontrak 7 /E1/KP.PTNBH/2021 Tanggal 8 Maret 2021.

Daftar pustaka

- Arief M. 2013. Pemberian probiotik yang berbeda pada pakan komersil terhadap pertumbuhan retensi protein dan serat kasar pada ikan nila (*Oreochromis* sp.). *Argoveteriner*, 1(2): 88-93.
- Afrizal A, Purwanto A. 2011. Pemanfaatan selulosa bakterial nata de coco sebagai adsorban logam Cu (II) dalam sistem berpelarut air. *Jurnal Riset Sains dan Kimia Terapan*, 1(1): 27-32.
- Aslamyiah S. 2006. *Peningkatan Peran Mikroba Saluran Pencernaan untuk Memacu Pertumbuhan Ikan Bandeng*. Disertasi. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Aslamyiah S. 2011. Effect of microbe *Bacillus* sp. and *Carnobacterium* sp. as feed additive on glucose content in blood, metabolic rate and energy balance in the omnivores phase giant gouramy, *Osphronemus gourami* Lac. *Prosiding Seminar Nasional Perikanan dan Kelautan Pekanbaru, Riau*, 26-27 Oktober 2011. ISBN 978-979-792-286-3.
- Aslamyiah S, Karim MY, Mirna. 2015. Konsumsi oksigen dan metabolisme ikan bandeng (*Chanos chanos* Forsskal) pada berbagai konsentrasi *Lactobacillus* sp. *Prosiding Seminar Nasional*

- Tahunan X Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan UGM, 8 Agustus 2015. ISBN: 978-602-71759-1-4.
- Aslamyeh S, Karim MY, Badraeni. 2017. Fermentasi tepung rumput laut dengan berbagai fermentor untuk meningkatkan kualitas sebagai bahan baku pakan ikan. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 16(1):11-17.
- Aslamyeh S, Karim MY, Badraeni, Tahya AM. 2018. Effect of Fermented Seaweed Addition on Blood Glucose Level, Hepatosomatic Index, and Gastric Evacuation Rate of Milkfish *Chanos chanos* Forsskal Larvae. *AACL Bioflux*, 11(1) 226-231.
- Chilmawati D, Swastawati F, Wijayanti I, Ambaryanto, Cahyono B. 2018. Probiotik guna peningkatan pertumbuhan, efisiensi pakan, tingkat kelulushidupan dan nilai nutrisi ikan bandeng (*Chanos chanos*). *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology* (IJFST), 13(2): 119-125.
- Cruz PM, Ibanez AL, Hermosillo OAM, Saad HCR. 2012. *Use of Probiotic in Aquaculture*. ISRN Microbiology.
- Dommels YEM, Kemperman RA, Zebregs YEMP, Draaisma RB. 2009. Survival of *Lactobacillus reuteri* dsm 17938 and *Lactobacillus rhamnosus* gg in the human gastrointestinal tract with daily consumption of a low-fat probiotic spread. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(19): 6198-204.
- Encarnação, P. 2016. *Functional feed additives in aquaculture feeds*. In *Aquafeed formulation*. Academic Press p: 217-237.
- Ikram-ul-Haq MMJ, Khan S, Siddiq Z. 2005. Cotton saccharifying activity of cellulases produced by co-culture of *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride*. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 1(3): 241-245.
- Khasani I. 2007. Aplikasi probiotik menuju sistem budidaya perikanan berkelanjutan. *Media Akuakultur*, 2(2): 1-3
- Kindom T, Alisson ME. 2010. The fecundity, gonadosomatic and hepatosomatic indices of *Pellonula leonensis* in the Lower Nun River, Niger Delta, Nigeria. *Current Research Journal of Biological Science*, 3(2): 175-179.
- Lee SM, Hwang UG, Cho SH. 2000. Effects of feeding frequency and dietary moisture content on growth, body composition and gastric evacuation of juvenile Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture*, 187: 399-409.
- Matthews JO, Highbie AD, Southern LL, Coombs DF, Bidner TD, Odgaard RL. 2003. Effect of chromium propionate and metabolizable energy on growth, carcass traits, and pork quality of growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science*. 81: 191-196.
- NRC. 1988. *Designing Food, Animal Product Option in the Market Place*. National Research Council, Academy Press, Washington. DC.
- Putri DR, Agustono, Subekti S. 2012. Kandungan bahan kering, serat kasar dan protein kasar pada daun lamtoro (*Leucaena glauca*) yang difermentasi dengan probiotik sebagai bahan pakan alami. *Jurnal Ilmiah dan Kelautan*, 4(2), 161-167.
- Ramadhana S, Fauzana NA, Ansyari P. 2012. Pemberian pakan komersil dengan penambahan probiotik yang mengandung *Lactobacillus* sp. terhadap pencernaan dan pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Fish Scientiae*, 2(42):178-187.
- Sakamole E, Lumenta TC, Runtuwene M. 2014. Pengaruh pemberian probiotik dosis berbeda dalam pakan terhadap pertumbuhan dan konversi pakan benih ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Buletin Sariputra*, 1(1): 29-33.
- Shitandi A, Alfred M, Symon M. 2007. Probiotic characteristic of lactococcus strain from local fermented *Amaranthus hybridus* and *Solanum nigrum*. *African Crop Science Conference Proceedings*, 8:1809-1812.

- Steinkraus KH. 1983. *Handbook of Fermented Foods*. Marcel Dekker. New York
- Syamsuddin R. 2010. *Sektor Perikanan Kawasan Indonesia Timur: Potensi Permasalahan, dan Prospek*. PT Perca, Jakarta.
- Takeuchi T. 1988. *Laboratory Work Chemical Evaluation of Dietary Nutrients*. In: Watanabe, T. (ed.): Fish Nutrition and Mariculture. Department of Aquatic Bioscience. Tokyo University of Fisheries. JICA p:179-226
- Wahyuningtyas P, Sitasiwi AJ, Mardiaty SM. 2018. Hepatosomatic index (HIS) dan diameter hepatosit mencit (*Mus musculus* L.) setelah paparan ekstrak air biji pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Biologi*, 7(1): 8-17.
- Wang MQ, Xu ZR, Sun JY, Kim BG. 2008. Effects of enzyme supplementation on growth, intestinal content viscosity, and digestive enzyme activities in growing pigs fed rough rice-based diet. *Asian-Aust. Journal of Animal Science*, 21(2): 270-276.
- Wedemeyer GA, Yasutake WT. 1977. Clinical methods for the assesment of the effects of environmental stress on fish health. *Technical Paper of the US Fish and Wildlife Service*. Volume 89. USA Washington DC: US Department of the Interior Fish and Wildlife Service.
- Yandes Z, Affandi, R. (2003). Pengaruh pemberian selulosa dalam pakan terhadap kondisi biologis benih ikan gurami (*Osphronemus gourami* Lac). *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 3(1): 27-33.
- Zhang YHP, Himmel ME, Mielenz JR. 2006. Outlook for cellulase improvement: screening and selection strategies. *Biotechnology Advances*, 24(5): 452-481.
- Zonneveld N, Huisman EA, Boon JH. 1991. *Prinsip-Prinsip Budidaya Ikan*. Gramedia, Jakarta.