

**FERMENTASI RUMPUT LAUT *Gracilaria verrucosa*
MENGUNAKAN ISOLAT BAKTERI SELULOLITIK DARI
LIMBAH OLAHAN RUMPUT LAUT SEBAGAI BAHAN BAKU
PAKAN IKAN BARONANG EMAS, *Siganus guttatus***

**SRI REDJEKI HESTI MULYANINGRUM
L013191014**



**PROGRAM STUDI ILMU PERIKANAN
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**FERMENTASI RUMPUT LAUT *Gracilaria verrucosa*
MENGUNAKAN ISOLAT BAKTERI SELULOLITIK DARI
LIMBAH OLAHAN RUMPUT LAUT SEBAGAI BAHAN BAKU
PAKAN IKAN BARONANG EMAS, *Siganus guttatus***

**SRI REDJEKI HESTI MULYANINGRUM
L013191014**



**PROGRAM STUDI ILMU PERIKANAN
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**FERMENTASI RUMPUT LAUT *Gracilaria verrucosa*
MENGUNAKAN ISOLAT BAKTERI SELULOLITIK DARI
LIMBAH OLAHAN RUMPUT LAUT SEBAGAI BAHAN BAKU
PAKAN IKAN BARONANG EMAS, *Siganus guttatus***

Disertasi

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar doktor

Program Studi Ilmu Perikanan

Disusun dan diajukan oleh

SRI REDJEKI HESTI MULYANINGRUM

L013191014

kepada

**PROGRAM STUDI ILMU PERIKANAN
SEKOLAH PASCA SARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

DISERTASI

FERMENTASI RUMPUT LAUT *Gracilaria verrucosa* MENGGUNAKAN ISOLAT BAKTERI SELULOLITIK DARI LIMBAH OLAHAN RUMPUT LAUT SEBAGAI BAHAN BAKU PAKAN IKAN BARONANG EMAS, *Siganus guttatus*

**SRI REDJEKI HESTI MULYANINGRUM
NIM L013191014**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Doktor Program Studi Ilmu Perikanan Sekolah Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin pada tanggal 18 Januari 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Promotor

Prof. Dr. Ir. Haryati, MS
NIP. 195405091981032001

Ko-promotor

Prof. Dr. Ir. Siti Aslamyah, MP
NIP. 196909011993032003

Ko-promotor

Dr. Asda Laining, S.Pi, MSc
NIP. 197109241999032004

Ketua Program Studi
Ilmu Perikanan

Prof. Dr. Ir. Musbir, M.Sc
NIP. 196508101989111001

Dekan Fakultas
Ilmu Kelautan dan Perikanan

Prof. Safruddin, S.Pi, MP, Ph.D
NIP. 197506112003121003



PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, disertasi berjudul "Fermentasi Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* Menggunakan Isolat Bakteri Selulolitik Dari Limbah Olahan Rumput Laut Sebagai Bahan Baku Pakan Ikan Baronang Emas, *Siganus guttatus*" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing (Prof. Dr. Ir. Haryati, MS sebagai Promotor dan Prof. Dr. Ir. Siti Aslamyah, MP sebagai ko-promotor-1 serta Dr. Asda Laining, S.Pi, MSc sebagai ko-promotor-2). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka disertasi ini. Sebagian dari isi disertasi ini telah dipublikasikan di Jurnal AACL Bioflux (2021), 14(3) sebagai artikel dengan judul "Cellulolytic bacteria isolated from agar waste as candidate seaweed fermentation agents in rabbitfish (*Siganus guttatus*) feed bioprocessing" dan di Jurnal Hayati Journal of Biosciences (2023), 30(5) dengan judul artikel "Fermentation of *Gracilaria verrucosa* to reduce insoluble non-starch polysaccharide (iNSP) using cellulolytic bacteria *Pseudomonas stutzeri* (ISO2) for a dietary ingredient of golden rabbitfish, *Siganus guttatus*".

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa disertasi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 18 Januari 2024



Sri Redjeki Hesti Mulyaningrum
NIM L013191014

Ucapan Terima Kasih

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Segala puji hanya milik Allah, atas pertolongan dan ridha Allah SWT penulis berhasil menyelesaikan penyusunan disertasi berjudul Fermentasi Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* Menggunakan Isolat Bakteri Selulolitik Dari Limbah Olahan Rumput Laut Sebagai Bahan Baku Pakan Ikan Baronang Emas, *Siganus guttatus*.

Dalam proses penyelesaian studi banyak pihak yang telah memberikan dukungan, saran, masukan dan bantuan yang sangat berarti. Atas semua sumbangsih tersebut, penulis menyampaikan apresiasi yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Haryati, MS, selaku promotor, ibu Prof. Dr. Ir. Siti Aslamyah, MP dan ibu Dr. Asda Laining, SPi, MSc selaku kopromotor, yang telah banyak meluangkan waktu, pikiran dan tenaga dalam memberikan bimbingan kepada penulis
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Zainuddin, MSi, bapak Prof. Dr. Ir. Metusalach, MSc, ibu Dr. rer. nat. Elmi Nurhaidah Zainuddin, DES, ibu Kasmianti, STP, MP, PhD dan bapak Prof. Dr. Ir. Rachman Syah, MS selaku tim penguji internal dan eksternal yang telah memberikan saran dan masukan yang konstruktif
3. Bapak Prof. Safruddin, S.Pi, MP, Ph.D selaku dekan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin yang telah memberikan dukungan sarana dan prasarana perkuliahan
4. Bapak Prof. Dr. Ir. Musbir, MSc selaku ketua program studi S3 Ilmu Perikanan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin yang selalu memberikan motivasi kepada mahasiswa
5. Kepala Badan Riset dan Sumberdaya Manusia Kelautan dan Perikanan, Kementerian Kelautan dan Perikanan dan Kepala Biro Organisasi dan Sumberdaya Manusia, Badan Riset dan Inovasi Nasional yang telah memberikan ijin belajar kepada penulis
6. Kepala BRPBAPPP, Bapak Dr. Andi Indrajaya Asaad, SPi, MSc beserta jajarannya yang telah memotivasi penulis untuk melanjutkan studi, dan memberikan dukungan finansial dan fasilitas riset.
7. Para pinisepuh BRPBAPPP Bapak Ir. Muharijadi Atmomarsono, MSc, Prof. Dr. Ir. Rachman Syah, MSi, Dr. Ir. Andi Parenrengi, MSc, Prof. Dr. Ir. Andi Akhmad

Mustafa, MP dan Prof. Dr. Ir. Brata Pantjara, MP untuk semua dukungan dan masukan yang sangat berharga dari mulai eksplorasi ide hingga pelaksanaan penelitian

8. Rekan-rekan peneliti dan litkayasa eks kelompok peneliti nutrisi dan teknologi pakan BRPBAPPP terkhusus almarhum Bapak Dr. Ir. Usman, MSi (teriring Al-Fatihah) yang telah banyak memberikan dukungan, arahan, masukan dan bantuan teknis dalam pelaksanaan penelitian
9. Tim riset baronang ACIAR Project FIS/2016/130 *Accelerating the development of finfish mariculture in Cambodia through south-south research cooperation with Indonesia* yang diketuai oleh ibu Dr. Asda Laining, SPi, MSc, atas dukungan penyediaan hewan uji, bantuan teknis di lapangan dan dukungan finansial di masa transisi transformasi kelembagaan
10. PT. Indomakmur Agar-agar yang telah memberikan ijin pengambilan sampel limbah padat olahan rumput laut
11. Rekan-rekan peneliti dan litkayasa eks BRPBAPPP, analis laboratorium nutrisi dan teknologi pakan, laboratorium bioteknologi, laboratorium kesehatan ikan dan lingkungan dan laboratorium analisa kualitas air yang telah banyak membantu dalam proses penelitian dan analisa sampel
12. Rekan-rekan seperjuangan petugas belajar mandiri bapak Kamaruddin, SPi, MSi, bapak Dr. Ir. Imam Taukhid, ST, MT dan ibu Bunga Rante Tampangallo, S.Pi, MSi atas kerjasama yang baik mulai dari pelaksanaan studi hingga penelitian.
13. Rekan-rekan seperjuangan program doktoral ilmu perikanan FIKP Universitas Hasanuddin angkatan 2019, untuk semua masukan yang bersifat membangun dalam setiap kesempatan berdiskusi
14. Keluarga tercinta, suami Dr. Hidayat Suryanto Suwoyo, S.Pi, MSi dan ananda Rayyan Wahyu Ramadhan yang tidak tergantikan keikhlasan, pengertian dan kesabarannya dalam mendampingi pada setiap proses penyelesaian studi, memberikan dukungan moral, serta memberikan ruang dan waktu untuk berkembang.
15. Keluarga besar R. Pramanto dan Suwoyo atas semua doa terbaik dan dukungan moral yang diberikan kepada penulis
16. Teriring Al-Fatihah untuk orang tua tercinta, ayahnda R. Pramanto (alm.) dan Suwoyo (alm.), ibunda Darjati (almh.) dan Bunaiya (almh.) yang tidak pernah lelah mendoakan, mendidik dan memberikan motivasi selama beliau masih

hidup. Semoga menjadi amal jariyah dan mendapatkan tempat yang mulia di sisi Allah SWT (Aamiin ya rabbal'amin)

17. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu

Semoga segala bantuan yang diberikan bernilai ibadah dan mendapat pahala disisi Allah SWT (Aamiin ya rabbal'amin).

Harapan yang besar agar hasil penelitian ini dapat memberikan sumbangsih bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi akuakultur di Indonesia.

Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Makassar,

Penulis

ABSTRAK

SRI REDJEKI HESTI MULYANINGRUM. Fermentasi Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* Menggunakan Isolat Bakteri Selulolitik Dari Limbah Olahan Rumput Laut Sebagai Bahan Baku Pakan Ikan Baronang Emas, *Siganus guttatus* (dibimbing oleh Haryati, Siti Aslamyah dan Asda Laining).

Pengembangan budidaya ikan baronang perlu didukung ketersediaan pakan baik kuantitas dan kualitas yang memadai untuk menghasilkan pertumbuhan yang optimal. Salah satu bahan baku yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan baku pakan adalah rumput laut *Gracilaria verrucosa*. Pemanfaatan rumput laut sebagai bahan baku pakan terkendala adanya kandungan serat yang tinggi. Proses fermentasi dengan bantuan mikroorganisme adalah salah satu cara untuk menurunkan kandungan serat. Tujuan penelitian adalah mengisolasi, mengkarakterisasi, menyeleksi dan mengidentifikasi bakteri selulolitik dari limbah padat olahan rumput laut untuk digunakan sebagai fermenter pada proses fermentasi rumput laut *G. verrucosa* sebagai bahan baku pakan ikan baronang emas, *Siganus guttatus*; menentukan pH media, waktu fermentasi dan perbandingan dosis *G. verrucosa* (G):inokulum bakteri (P) yang optimum dan mengevaluasi kinerja isolat bakteri selulolitik pada fermentasi rumput laut *G. verrucosa*; menentukan dosis tepung *G. verrucosa* fermentasi dalam formulasi pakan dan mengevaluasi performa pertumbuhan ikan baronang yang diberi pakan *G. verrucosa* fermentasi. Dari hasil isolasi diperoleh isolat bakteri dari genus *Pseudomonas* dengan tiga species yang teridentifikasi sebagai *Pseudomonas* sp., *P. stutzeri* dan *P. aeruginosa*. Isolat bakteri *P. stutzeri* (ISO2) dipilih sebagai fermenter karena memiliki indeks selulolitik ($3,03 \pm 0,53$) dan aktivitas CMCase tertinggi ($1,20 \pm 0,07$ U/mL/menit) dan tidak bersifat patogen bagi ikan baronang; dari hasil optimasi diperoleh hasil bakteri *P. stutzeri* dapat tumbuh optimal pada media dengan pH 8, waktu fermentasi optimum untuk menurunkan kandungan serat rumput laut *G. verrucosa* adalah selama 4 hari dengan kombinasi perbandingan G:P sebesar (150 g:10%). Serat tidak larut hemiselulosa lebih mudah mengalami degradasi oleh bakteri *P. stutzeri* dibandingkan selulosa dan lignin. Proses fermentasi menghasilkan vibrasi spektra *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) yang menunjukkan adanya konversi serat rumput laut menjadi gula pereduksi. Dari gambaran hasil foto *Scanning Electron Microscope* (SEM), menunjukkan bahwa fermentasi mengakibatkan perubahan struktur permukaan dinding sel rumput laut yang menunjukkan adanya proses degradasi dinding sel; dosis tepung *G. verrucosa* fermentasi pada formulasi pakan yang menghasilkan pertumbuhan ikan baronang terbaik pada kisaran 20-25%. Adanya kandungan rumput laut *G. verrucosa* fermentasi dalam formulasi pakan dapat meningkatkan kandungan protein dan asam amino karkas ikan baronang.

Kata kunci : baronang emas, fermentasi, formulasi pakan, *Gracilaria verrucosa*, *Pseudomonas stutzeri*, *Siganus guttatus*

ABSTRACT

SRI REDJEKI HESTI MULYANINGRUM. Fermentation of *Gracilaria verrucosa* Using Cellulolytic Bacteria Isolated From Solid Waste of Seaweed Processing As Dietary Ingredient of Golden Rabbitfish, *Siganus guttatus* (supervised by Haryati, Siti Aslamyah and Asda Laining)

The development of rabbitfish farming requires a sufficient and good-quality feed to achieve optimal growth. *Gracilaria verrucosa* is a potential raw material as a feed ingredient. The use of seaweed as a feed ingredient is constrained by its high fiber content. Fermentation process using microorganisms is a method to decrease the fiber content. The research aims to isolate, characterize, select, and identify cellulolytic bacteria isolated from processed seaweed solid waste to be used as a fermenter in the fermentation process of *G. verrucosa*; determine the optimum pH of media, fermentation time and ratio of *G. verrucosa* (G) : isolated bacteria inoculum (P) and evaluate their performance in fermenting *G. verrucosa*; determine the appropriate dosage of fermented *G. verrucosa* in feed formulations and evaluate the growth performance of rabbitfish. *Pseudomonas* bacterial was successfully isolated from solid waste of processed seaweed with three species identified as *Pseudomonas* sp., *Pseudomonas stutzeri*, and *Pseudomonas aeruginosa*. Among the three bacterial isolates, *P. stutzeri* (ISO2) was selected as the fermenter due to its high cellulolytic index (3.03 ± 0.53) and CMC_{ase} activity (1.20 ± 0.07 U/mL/minute), as well as its non-pathogenic nature for rabbitfish; *P. stutzeri* exhibit best growth on medium with a pH of 8. Four days fermentation period with a G:P ratio of 150 g:10%, was recommended for effectively reducing the fiber content of *G. verrucosa*. *P. stutzeri* exhibit a higher propensity for degrading hemicellulose compared to cellulose and lignin. The fermentation process generates Fourier Transform Infra-red (FTIR) spectrum vibrations that signify the conversion of seaweed's fiber into reducing sugar. The Scanning Electron Microscope (SEM) image revealed that fermentation led to alterations in the surface morphology of the seaweed cell wall, suggesting a process of cell wall degradation; the ideal dosage of fermented *G. verrucosa* as a feed ingredient was between 20 and 25% which resulted best growth of golden rabbitfish. The Inclusion of fermented *G. verrucosa* in feed formulations can enhance the amino acid content of rabbitfish carcass.

Keywords: feed formulation, fermentation, golden rabbitfish, *Gracilaria verrucosa*, *Pseudomonas stutzeri*, *Siganus guttatus*

DAFTAR ISI

Halaman

Ucapan Terima Kasih	v
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN UMUM	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4. Kegunaan Penelitian	5
1.5. Nilai Kebaruan Penelitian	5
1.6. Hipotesis	5
1.7. Kerangka Pikir.....	6
DAFTAR PUSTAKA	7
BAB II ISOLASI, KARAKTERISASI, SELEKSI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI KANDIDAT FERMENTER DARI LIMBAH OLAHAN RUMPUT LAUT.....	10
Abstrak.....	10
2.1. Pendahuluan	11
2.2. Tujuan Penelitian.....	12
2.3. Metode Penelitian.....	13
2.4. Hasil dan Pembahasan	18
2.5. Kesimpulan	29
DAFTAR PUSTAKA	30
BAB III FERMENTASI RUMPUT LAUT <i>Gracilaria verrucosa</i> UNTUK MEREDUKSI KANDUNGAN SERAT TIDAK LARUT MENGUNAKAN BAKTERI SELULOLITIK <i>Pseudomonas</i> <i>stutzeri</i> (ISO2) SEBAGAI BAHAN PAKAN IKAN BARONANG EMAS, <i>Siganus guttatus</i>	34
Abstrak.....	34
3.1. Pendahuluan	35
3.2. Tujuan Penelitian.....	36
3.3. Metode Penelitian.....	36
3.4. Hasil dan Pembahasan	43
3.5. Kesimpulan	54
DAFTAR PUSTAKA	55
BAB IV EVALUASI PEMANFAATAN TEPUNG RUMPUT LAUT <i>Gracilaria verrucosa</i> FERMENTASI SEBAGAI BAHAN BAKU PAKAN IKAN BARONANG EMAS, <i>Siganus guttatus</i>	60
Abstrak.....	60
4.1. Pendahuluan	61
4.2. Tujuan Penelitian.....	62
4.3. Metode Penelitian.....	62

4.4. Hasil dan Pembahasan	73
4.5. Kesimpulan	89
DAFTAR PUSTAKA.....	90
BAB V PEMBAHASAN UMUM	108
BAB VI KESIMPULAN dan REKOMENDASI	112

DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
2.1. Morfologi dan pewarnaan Gram isolat bakteri yang diperoleh dari limbah olahan rumput laut	18
2.2. Kelangsungan hidup, gejala klinis dan perilaku ikan baronang emas (<i>S. guttatus</i>) selama 10 hari uji patogenitas bakteri	23
2.3. Jumlah sel darah merah (eritrosit) dan sel darah putih (leukosit) ikan baronang yang diinfeksi dengan isolat bakteri dari limbah olahan rumput laut pada uji patogenitas bakteri	24
2.4. Similaritas DNA isolat bakteri dibandingkan dengan referensi pada GeneBank (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov)	27
2.5. Jarak genetika tiga isolat bakteri <i>Pseudomonas</i> yang memiliki potensi sebagai fermenter dengan <i>Acinetobacter ursingii</i> sebagai outgroup	27
3.1. Kelompok perlakuan dosis substrat (G) dan konsentrasi inokulum (P) pola faktorial dengan rancangan dasar acak lengkap	41
3.2. Proksimat rumput laut <i>G. verrucosa</i> pada fermentasi <i>P. stutzeri</i> dengan waktu yang berbeda	46
3.3. Aktivitas selulolitik bakteri <i>P. stutzeri</i> pada kombinasi tepung <i>G. verrucosa</i> : inokulum <i>P. stutzeri</i> (G:P) berbeda	48
4.1. Formulasi pakan uji berbahan baku rumput laut <i>G. verrucosa</i> fermentasi	63
4.2. Koefisien pencernaan bahan kering, protein dan lemak pada pakan uji yang mengandung rumput laut <i>G. verrucosa</i> fermentasi	73
4.3. Laju pertumbuhan spesifik, rasio konversi pakan, efisiensi pakan dan kelangsungan hidup ikan baronang emas, <i>S. guttatus</i> yang diberi pakan <i>G. verrucosa</i> fermentasi	80
4.4. Proksimat karkas ikan baronang emas, <i>S. guttatus</i> yang diberi pakan tepung rumput laut <i>G. verrucosa</i> fermentasi	84
4.5. Kandungan asam amino karkas ikan baronang emas, <i>S. guttatus</i> yang diberi pakan tepung rumput laut <i>G. verrucosa</i> fermentasi	86

DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1.1.	Kerangka pikir penelitian 6
2.1.	Pengukuran indeks selulolitik 15
2.2.	Terbentuknya zona bening pada media CMC menunjukkan isolat bakteri memiliki kemampuan selulolitik : D1 = diameter zona mening; D2 = diameter koloni 19
2.3.	Indeks selulolitik dari 15 isolat bakteri yang diisolasi dari limbah agar 20
2.4.	Aktivitas CMCase pada sembilan isolat bakteri kandidat fermenter 21
2.5.	Pola pertumbuhan isolat bakteri selama 144 jam 22
2.6.	Ikan baronang yang diinjeksi dengan isolat bakteri (ISO-8) memiliki mata bengkak dan warna insang pucat (tanda panah) (A) dibandingkan dengan kontrol (B). 24
2.7.	Fragmen DNA dari 8 isolat bakteri teramplifikasi pada 1500 bp 26
2.8.	Hubungan evolusi isolat bakteri 28
3.1.	Pertumbuhan bakteri <i>P. stutzeri</i> pada media CMC dengan pH berbeda 43
3.2.	Aktivitas enzim selulase bakteri <i>P. stutzeri</i> pada waktu fermentasi berbeda 44
3.3.	Kandungan gula pereduksi <i>G. verrucosa</i> pada waktu fermentasi berbeda 45
3.4.	Interaksi antara dosis <i>G. verrucosa</i> dan konsentrasi inokulum <i>P. stutzeri</i> 49
3.5.	Kandungan polisakarida non pati (<i>insoluble non starch polysaccharide</i> =iNSP) pada tepung rumput laut <i>G. verrucosa</i> hasil fermentasi dan kontrol (tanpa fermentasi). 49
3.6.	Spektra FTIR rumput laut <i>G. verrucosa</i> : (a). <i>G. verrucosa</i> tanpa fermentasi (UFG) dan (b). <i>G. verrucosa</i> fermentasi (FG) 52
3.7.	Foto SEM dari struktur permukaan <i>Gracilaria</i> pada beberapa pembesaran; kontrol (tanpa fermentasi) pada pembesaran 500x (a) dan 1000x (b), permukaan dinding sel halus, tidak berpori dan tekstur teratur (tanda panah merah); <i>Gracilaria</i> fermentasi pada pembesaran 500x (c) dan 1000x (d), permukaan dinding sel retak-retak dan berpori (tanda panah putih) 53
4.1.	Aktivitas enzim amilase ikan baronang yang diberi pakan <i>G. verrucosa</i> fermentasi pada level yang berbeda. 74
4.2.	Ekspresi mRNA α -amilase ikan baronang emas, <i>S. guttatus</i> yang diberi pakan <i>G. verrucosa</i> fermentasi pada level yang berbeda terhadap kontrol (G0). 74
4.3.	Ekspresi mRNA IGF-1 relatif ikan baronang emas, <i>S. guttatus</i> yang diberi pakan <i>G. verrucosa</i> fermentasi pada level yang berbeda. 75
4.4.	Skor kondisi morfologi usus ikan baronang yang diberi pakan rumput laut <i>Gracilaria</i> fermentasi pada bagian anterior, tengah dan posterior 76

4.5.	Dosis <i>G. verrucosa</i> fermentasi berdasarkan nilai SGR, FCR dan FE yang ditentukan dengan perhitungan regresi	81
4.6.	Kadar gula darah ikan pada pemberian pakan yang mengandung <i>G. verrucosa</i> pada level yang berbeda.....	82
4.7.	Nilai indeks hepatosomatic ikan baronang emas, <i>S. guttatus</i> yang diberi pakan <i>G. verrucosa</i> fermentasi pada level yang berbeda.	84
4.8.	Kualitas air (oksigen terlarut, salinitas, suhu dan pH) selama penelitian berlangsung	87

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
4.1.	Hasil analisis histologi usus anterior..... 95
4.2.	Hasil analisa histologi usus tengah 99
4.3.	Hasil analisis histologi usus bagian posterior 103
4.4.	Resume response biologi ikan baronang emas, <i>S. guttatus</i> terhadap dosis <i>G. verrucosa</i> fermentasi..... 107

BAB I

PENDAHULUAN UMUM

1.1. Latar Belakang

Budidaya ikan bersirip (*finfish*) mengalami peningkatan sepanjang tahun 2000-2020 baik budidaya pantai maupun laut dari total produksi 2,6 juta ton menjadi 8,3 juta ton (FAO, 2022). Salah satu ikan bersirip yang memiliki potensi untuk dikembangkan adalah ikan baronang emas, *Siganus guttatus* karena memiliki nilai ekonomi tinggi dan metode budidayanya relatif mudah dan dapat dibudidayakan dengan kepadatan tinggi (Saoud *et al.*, 2008; Saoud *et al.*, 2007).

Berkembangnya sektor perikanan budidaya di satu sisi mempengaruhi peningkatan kebutuhan pakan, dimana biaya pakan mencapai 50-70% dari biaya operasional budidaya (Kumar *et al.*, 2018). Data FAO (2022) menunjukkan bahwa produksi akuakultur dengan pemberian pakan terus meningkat sepanjang tahun 2000-2020 dari 19 juta ton hingga 63 juta ton. Peningkatan produksi akuakultur ini memberikan konsekuensi pada peningkatan kebutuhan pakan. Saat ini sebagian bahan baku pakan ikan merupakan bahan import, sehingga memerlukan biaya yang tinggi untuk produksi. Salah satu sumber karbohidrat pada pakan yang masih diimport adalah jagung (DJPB, 2020). Formulasi pakan dengan bahan baku lokal dengan biaya yang relatif murah dan ketersediaannya berlimpah seperti rumput laut perlu dikembangkan, apalagi saat ini belum tersedia pakan komersil untuk ikan baronang.

Indonesia sebagai negara produsen rumput laut terbesar kedua di dunia setelah China dengan total produksi mencapai 9,3 juta ton pada tahun 2020 (FAO, 2022; KKP, 2022) memiliki potensi untuk memanfaatkan rumput laut sebagai bahan baku pakan. Faktor lain yang mendukung pemanfaatan rumput laut sebagai bahan baku pakan adalah keberadaannya sebagai komponen rantai makanan akuatik. Organisme akuatik lebih mudah beradaptasi dengan pakan berbahan baku tumbuhan air, terutama ikan baronang yang merupakan spesies herbivora. Selain itu rumput laut juga memiliki kandungan nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan ikan. Menurut Biancarosa *et al.* (2017) meskipun kandungan nutrisinya dipengaruhi oleh spesiesnya, rumput laut dapat digunakan sebagai bahan pakan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi hewan, seperti karbohidrat dan protein.

Rumput laut *Gracilaria verrucosa* sebagai salah satu jenis rumput laut yang banyak dikembangkan di Indonesia menjadi alternatif bahan baku pakan ikan baronang. Selain kandungan nutrisinya, ketersediaannya yang melimpah dan berkesinambungan menjadi faktor pendukung sebagai bahan pakan ikan baronang (Xu *et al.*, 2011). Palatabilitas ikan baronang terhadap spesies *Gracilaria* juga cukup tinggi (Cuihong *et al.*, 2014). Produksi *Gracilaria* spp. global pada tahun 2020 mencapai 14,8 % dari total produksi rumput laut global, menempati posisi tertinggi ke tiga setelah *Laminaria japonica* dan *Euclima* spp (FAO, 2022). Kelimpahan dan keanekaragaman spesies *Gracilaria* yang tinggi di Indonesia juga menjadi keuntungan tersendiri sebagai bahan pakan ikan baronang dengan kandungan nutrisi yang beragam.

Gracilaria sp. merupakan bahan alam yang mengandung protein, mineral, senyawa bioaktif dan polisakarida fungsional (Valente *et al.*, 2021). Beberapa penelitian mengevaluasi pemanfaatan *Gracilaria* sp. dan produk sampingnya sebagai pakan ikan. Menurut Al-Asgah *et al.* (2016) pemanfaatan *G. arcuate* sebagai pakan ikan lele. Passos *et al.* (2021) melaporkan *G. gracilis* sebagai substitusi tepung ikan pada pakan ikan kakap. Silva-Brito *et al.* (2021) memanfaatkan produk samping dari rumput laut *Gracilaria* sebagai bahan pakan ikan kakap, sedangkan Bakky *et al.* (2023) memanfaatkan polisakarida dari *G. lemaneiformis* dalam pakan ikan baronang *S. canaliculatus*. Selain itu, beberapa *Gracilaria* sp. juga dapat dimanfaatkan sebagai suplemen untuk meningkatkan imunostimulan ikan. Maftuch *et al.* (2016) melaporkan pemanfaatan bioaktif *G. verrucosa* untuk mengatasi bakteri patogen pada ikan air tawar dan air payau. Liu *et al.* (2019) memperoleh pemberian ekstrak *G. tenuispitata* dapat meningkatkan response imun udang vannamei. Rudi *et al.* (2019) memanfaatkan ekstrak rumput laut *G. verrucosa* sebagai antibakteri *Vibrio harveyi* pada budidaya udang vannamei.

Kandungan utama rumput laut adalah karbohidrat, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi bagi ikan. Karbohidrat yang terkandung pada rumput laut sebagian besar dalam bentuk serat yang tidak dapat dicerna sebagai polisakarida non pati (*non-starch polysaccharide=NSP*). NSP terdiri dari NSP terlarut (*soluble NSP=sNSP*) dan NSP tidak larut (*insoluble NSP=iNSP*). sNSP merupakan polisakarida yang dapat larut dalam air seperti agar, karagenan, alginat, fucan, laminaran dan ulvan (Gómez-Ordóñez *et al.*, 2010; Samarasinghe *et al.*, 2021), sedangkan iNSP merupakan komponen serat yang tidak dapat larut

dalam air seperti selulosa, hemiselulosa dan lignin (Deng *et al.*, 2021). Menurut Øverland *et al.* (2019), kandungan serat terlarut sebesar 52-55% dari total kandungan serat. Hal ini merupakan suatu kelebihan rumput laut dibandingkan dengan tumbuhan terrestrial sebagai bahan baku pakan, dimana kandungan serat terlarut dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi oleh ikan.

Selain dari kandungan serat yang tinggi, kandungan nutrisi rumput laut juga tersimpan di dalam matriks seluler rumput laut, sehingga untuk mengeluarkannya perlu memecah dinding sel (MacArtain *et al.*, 2007). Proses hidrolisis dengan memanfaatkan enzim selulase dapat membantu menurunkan kandungan serat dan memecah dinding sel rumput laut sehingga pemanfaatannya sebagai bahan baku pakan lebih optimal (Horn, 2017; Joubert & Fleurence, 2008).

Proses fermentasi untuk meningkatkan mutu bahan baku pakan dengan memanfaatkan mikroorganisme selulolitik dapat menurunkan kandungan NSP rumput laut *G. verrucosa*. Salah satu sumber mikroorganisme selulolitik yang dapat dimanfaatkan sebagai fermenter pada proses fermentasi rumput laut *G. verrucosa* adalah limbah olahan rumput laut. Menurut Munifah *et al.*, (2015) pada limbah padat olahan rumput laut terdapat bakteri selulolitik yang memiliki kemampuan mendegradasi serat. Fermentasi rumput laut *G. verrucosa* sebagai bahan baku pakan ikan baronang, bertujuan untuk merombak kandungan NSP menjadi senyawa yang lebih sederhana, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi oleh ikan.

1.2. Rumusan Masalah

Untuk menunjang pengembangan budidaya ikan baronang di Indonesia diperlukan ketersediaan pakan yang dapat memenuhi kebutuhan nutrisi ikan, dengan baku lokal yang murah dan ketersediaanya berkesinambungan. Rumput laut sebagai salah satu komponen rantai makanan akuatik dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pakan ikan baronang yang merupakan species herbivora. Selain daripada itu, dibandingkan sumber karbohidrat dari tumbuhan terrestrial, rumput laut memiliki kandungan serat terlarut yang dapat dimanfaatkan oleh ikan. Rumput laut *G. verrucosa* merupakan species yang telah banyak dibudidayakan di Indonesia dapat menjadi alternatif bahan baku pakan ikan baronang. Kendala yang dihadapi dalam memanfaatkan rumput laut sebagai bahan baku pakan adalah kandungan serat yang tinggi dan dinding sel yang kompleks sehingga pemanfaatannya kurang optimal sebagai bahan baku pakan. Untuk mengatasi hal

tersebut perlu dilakukan fermentasi dengan memanfaatkan mikroorganisme untuk menurunkan kandungan serat tidak terlarut dan memecah dinding sel rumput laut.

Salah satu sumber mikroorganisme selulolitik yang dapat digunakan sebagai fermenter dalam proses fermentasi rumput laut adalah limbah padat olahan rumput laut. Limbah padat olahan rumput laut yang masih mengandung serat merupakan media yang baik bagi bakteri selulolitik. Dengan memanfaatkan bakteri selulolitik dari limbah padat olahan rumput laut sebagai fermenter pada proses fermentasi, kandungan polisakarida non pati (*non starch polisakarida*=NSP) rumput laut *G. verrucosa* dapat diturunkan, sehingga pemanfaatannya sebagai komponen bahan baku pakan dapat optimal. Dari uraian tersebut dapat dirumuskan beberapa masalah sebagai berikut :

1. Jenis bakteri selulolitik apa yang terdapat pada limbah olahan rumput laut yang dapat digunakan sebagai fermenter pada proses fermentasi rumput laut *G. verrucosa* sebagai bahan baku pakan ikan baronang?
2. Bagaimana kondisi pH, waktu fermentasi dan perbandingan dosis *G. verrucosa* dan inokulum bakteri yang diperlukan oleh isolat bakteri selulolitik pada proses fermentasi untuk menurunkan kandungan NSP rumput laut *G. verrucosa*?
3. Berapa dosis tepung *G. verrucosa* fermentasi dalam formulasi pakan yang dapat menghasilkan pertumbuhan ikan baronang terbaik?

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Melakukan isolasi, karakterisasi, seleksi dan identifikasi bakteri selulolitik dari limbah padat olahan rumput laut untuk digunakan sebagai fermenter pada proses fermentasi rumput laut *G. verrucosa* sebagai bahan baku pakan ikan baronang emas, *S. guttatus*.
2. Menentukan pH media, waktu fermentasi dan perbandingan dosis *G. verrucosa* dan konsentrasi inokulum yang optimal dan mengevaluasi kinerja isolat bakteri selulolitik pada fermentasi rumput laut *G. verrucosa*
3. Menentukan dosis optimal tepung *G. verrucosa* fermentasi dalam formulasi pakan yang menghasilkan pertumbuhan ikan baronang maksimal dan mengevaluasi performa pertumbuhan ikan baronang yang diberi pakan *G. verrucosa* fermentasi.

1.4. Kegunaan Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Tersedianya isolat bakteri dari limbah padat olahan rumput laut sebagai fermenter pada proses fermentasi untuk menurunkan kandungan serat rumput laut *G. verrucosa*
2. Tersedianya pakan berbahan baku lokal tepung rumput laut *G. verrucosa* hasil fermentasi untuk menunjang pengembangan budidaya ikan baronang emas, *S. guttatus*.

1.5. Nilai Kebaruan Penelitian

Nilai kebaruan dari penelitian ini adalah :

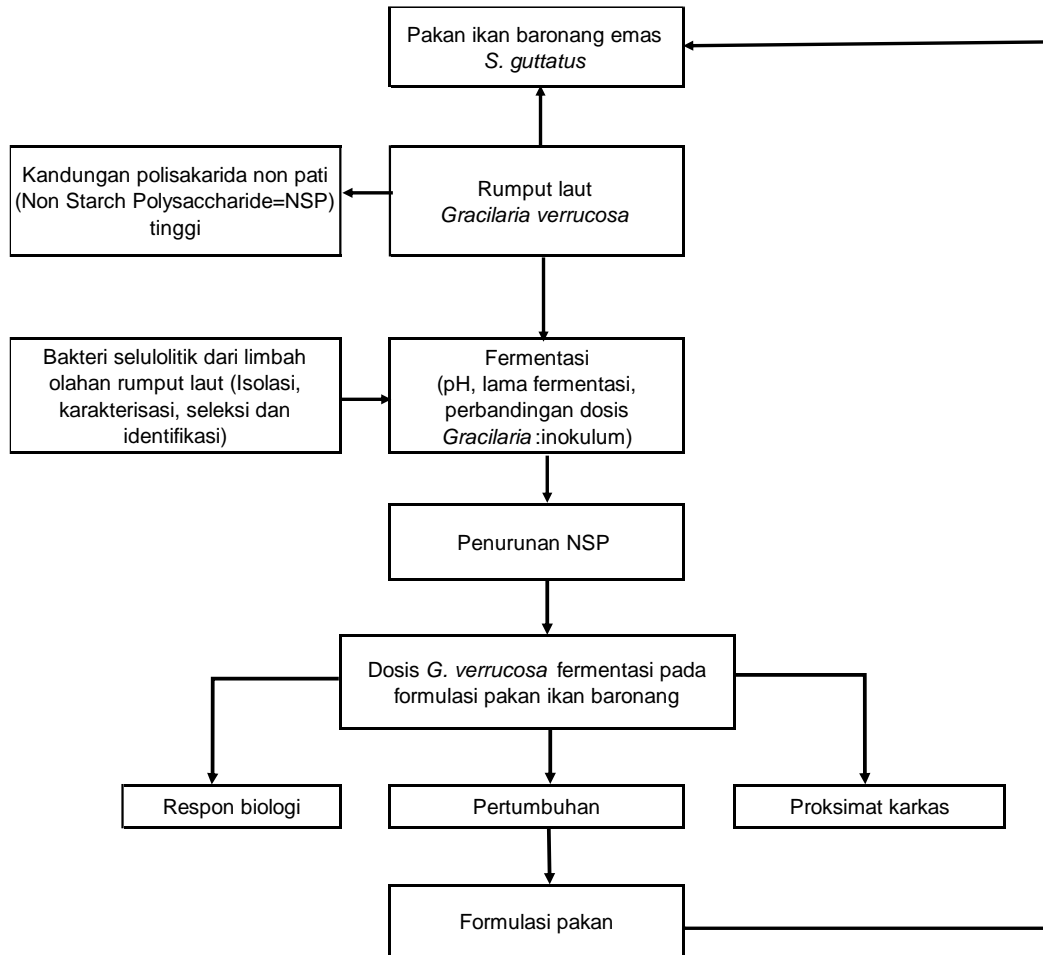
Pemanfaatan tepung rumput laut *G. verrucosa* yang difermentasi menggunakan isolat bakteri selulolitik dari limbah olahan rumput laut sebagai bahan baku pakan ikan baronang emas, *S. guttatus*.

1.6. Hipotesis

1. Terdapat bakteri selulolitik pada limbah olahan rumput laut yang dapat digunakan sebagai fermenter pada fermentasi rumput laut *G. verrucosa* sebagai bahan baku pakan ikan baronang
2. Isolat bakteri selulolitik pada pH, waktu fermentasi dan perbandingan dosis *G. verrucosa* dan konsentrasi inokulum yang sesuai menurunkan kandungan serat rumput laut *G. verrucosa*
3. Tepung rumput laut *G. verrucosa* fermentasi dengan dosis tertentu menghasilkan pertumbuhan ikan baronang, *S. guttatus* yang terbaik

1.7. Kerangka Pikir

Kerangka pikir dari penelitian ini seperti disajikan pada Gambar 1.1 berikut:



Gambar 1.1. Kerangka pikir penelitian

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Asgah, N. A., Younis, E. S. M., Abdel-Warith, A. W. A., & Shamlol, F. S. (2016). Evaluation of red seaweed *Gracilaria arcuata* as dietary ingredient in African catfish, *Clarias gariepinus*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(2), 205–210. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.11.006>
- Bakky, M. A. H., Tran, N. T., Zhang, Y., Hu, H., Lin, H., Zhang, M., Liang, H., Zhang, Y., & Li, S. (2023). Effects of dietary supplementation of *Gracilaria lemaneiformis*-derived sulfated polysaccharides on the growth, antioxidant capacity, and innate immunity of rabbitfish (*Siganus canaliculatus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 139(108933), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.108933>
- Biancarosa, I., Belghit, I., Bruckner, C.G., Liland, N. S., & Waagbø, R., Amlund, H., Heesch, S. & Lock, E. (2017). Chemical characterization of 21 species of marine macroalgae common in Norwegian waters: benefits of and limitations to their potential use in food and feed. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(5), 2035–2042. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8798>
- Cuihong, Y., Fangui, Z., Shuqi, W & Yuanyou, L. (2014). Preference of the herbivorous marine teleost *Siganus canaliculatus* for different macroalgae. *Journal of Univ. China*, 13(3), 516–522. <https://doi.org/10.1007/s11802-014-2551-3>
- Deng, J., Zhang, X., Sun, Y., Mi, H., & Zhang, L. (2021). Effects of different types of non-starch polysaccharides on growth, digestive enzyme activity, intestinal barrier function and antioxidant activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Reports*, 21(100864), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100864>
- DJPB. (2020). Rencana strategis tahun 2020-2024. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- FAO. (2022). *The State of the World Fisheries and Aquaculture - 2022 (SOFIA)*. <https://www.fao.org/3/cc0461en/cc0461en.pdf>
- Gómez-Ordóñez, E., Jiménez-Escrig, A., & Rupérez, P. (2010). Dietary fibre and physicochemical properties of several edible seaweeds from the northwestern Spanish coast. *Food Research International*, 43(9), 2289–2294. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.08.005>
- Horn, S. J. (2017). *Bioprocessing of seaweed to fish feed Foods of Norway WP1 : Development of novel feeds and processing*. 1–17.
- Joubert, Y., & Fleurence, J. (2008). Simultaneous extraction of proteins and DNA by an enzymatic treatment of the cell wall of *Palmaria palmata* (Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 20(1), 55–61. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9180-9>
- KKP. (2022). *Laporan Kinerja Kementerian Kelautan dan Perikanan 2022*. Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Kumar, M., Patel, A. B., Keer, N. R., Mandal, S. C., Biswas, P., & Das, S. (2018). Utilization of unconventional dietary energy source of local origin in aquaculture: Impact of replacement of dietary corn with tapioca on physical properties of extruded fish feed. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, March.
- Liu, P. C., Lin, P. W., Huang, C. L., Hsu, C. H., & Chen, J. C. (2019). Long-term administration of diets containing *Gracilaria tenuistipitata* extract induce the expression of immune-related genes and increase the immune response and resistance against *Vibrio harveyi* in white shrimp *Litopenaeus vannamei*.

- Gene Reports*, 15(December 2018), 100378.
<https://doi.org/10.1016/j.genrep.2019.100378>
- MacArtain, P., Gill, C. I. R., Brooks, M., Campbell, R., & Rowland, I. R. (2007). Nutritional value of edible seaweeds. *Nutrition Reviews*, 65(12), 535–543.
<https://doi.org/10.1301/nr.2007.dec.535-543>
- Maftuch, Kurniawati, I., Adam, A., & Zamzami, I. (2016). Antibacterial effect of *Gracilaria verrucosa* bioactive on fish pathogenic bacteria. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 42(4), 405–410.
<https://doi.org/10.1016/j.ejar.2016.10.005>
- Munifah, I., Sunarti, T. C., Irianto, H. E., & Meryandini, A. (2015). Biodiversity of cellulolytic bacteria isolated from the solid wastes of agar seaweed processing industry. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 10(3), 129–139. <https://doi.org/10.15578/squalen.v10i3.129>
- Øverland, M., Mydland, L. T., & Skrede, A. (2019). Marine macroalgae as sources of protein and bioactive compounds in feed for monogastric animals. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(1), 13–24.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.9143>
- Passos, R., Correia, A. P., Pires, D., Pires, P., Ferreira, I., Simões, M., do Carmo, B., Santos, P., Pombo, A., Afonso, C., & Baptista, T. (2021). Potential use of macroalgae *Gracilaria gracilis* in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*): Health benefits from a sustainable source. *Fish and Shellfish Immunology*, 119, 105–113. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.09.033>
- Rudi, M., Sukenda, S., Pasaribu, W., & Hidayatullah, D. (2019). Seaweed extract of *Gracilaria verrucosa* as an antibacterial and treatment against *Vibrio harveyi* infection of *Litopenaeus vannamei*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 18(2), 120–129. <https://doi.org/10.19027/jai.18.2.11-20>
- Samarasinghe, M. B., van der Heide, M. E., Weisbjerg, M. R., Sehested, J., Sloth, J. J., Bruhn, A., Vestergaard, M., Nørgaard, J. V., & Hernández-Castellano, L. E. (2021). A descriptive chemical analysis of seaweeds, *Ulva* sp., *Saccharina latissima* and *Ascophyllum nodosum* harvested from Danish and Icelandic waters. *Animal Feed Science and Technology*, 278(115005), 1–12.
<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115005>
- Saoud, I. P., Ghanawi, J., & Lebbos, N. (2008). Effects of stocking density on the survival, growth, size variation and condition index of juvenile rabbitfish *Siganus rivulatus*. *Aquaculture International*, 16(2), 109–116.
<https://doi.org/10.1007/s10499-007-9129-7>
- Saoud, I. P., Kreydiyyeh, S., Chalfoun, A., & Fakh, M. (2007). Influence of salinity on survival, growth, plasma osmolality and gill Na⁺-K⁺-ATPase activity in the rabbitfish *Siganus rivulatus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 348(1–2), 183–190. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.05.005>
- Silva-Brito, F., Alexandrino, D. A. M., Jia, Z., Mo, Y., Kijjoo, A., Abreu, H., Carvalho, M. F., Ozório, R., & Magnoni, L. (2021). Fish performance, intestinal bacterial community, digestive function and skin and fillet attributes during cold storage of gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets supplemented with *Gracilaria* by-products. *Aquaculture*, 541(April).
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736808>
- Valente, L. M. P., Batista, S., Ribeiro, C., Pereira, R., Oliveira, B., Garrido, I., Baião, L. F., Tulli, F., Messina, M., Pierre, R., Abreu, H., Pintado, M., & Kiron, V. (2021). Physical processing or supplementation of feeds with phytochemical compounds, alginate oligosaccharide or nucleotides as methods to improve the utilization of *Gracilaria gracilis* by juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 530(September 2020), 735914.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735914>

Xu, S., Zhang, L., Wu, Q., Liu, X., Wang, S., You, C., & Li, Y. (2011). Evaluation of dried seaweed *Gracilaria lemaneiformis* as an ingredient in diets for teleost fish *Siganus canaliculatus*. *Aquaculture International*, 19(5), 1007–1018. <https://doi.org/10.1007/s10499-011-9418-z>