

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-aziz, M. F. A., Mohamed, R. A., Abou-Zied, R. M., & Allam, S. M. (2016). Effect of feeding frequency and feeding time on growth performance , feed utilization efficiency and body chemical composition on rabbitfish *Siganus rivulatus* fry and juvenile under laboratory condition. *Egypt. J. Aquat. Biol. & Fish.*, 20(3), 35–52. <https://doi.org/10.21608/ejabf.2016.10589>
- Abdel-Latif, H. M. R., Shukry, M., Noreldin, A. E., Ahmed, H. A., El-Bahrawy, A., Ghetas, H. A., & Khalifa, E. (2023). Milk thistle (*Silybum marianum*) extract improves growth, immunity, serum biochemical indices, antioxidant state, hepatic histoarchitecture, and intestinal histomorphometry of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*. *Aquaculture*, 562(August 2022), 738761. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738761>
- Al-Asgah, N. A., Younis, E. M., & Abdel-warith, A. A. (2016). Evaluation of red seaweed *Gracilaria arcuata* as dietary ingredient in African catfish, *Clarias gariepinus*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2016(23), 205–210.
- 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>
- Aslamyah, S., Karim, M. Y., & Badraeni, . (2017). Fermentation of seaweed flour with various fermenters to improve the quality of fish feed ingredients. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 16(1), 8. <https://doi.org/10.19027/jai.16.1.8-14>
- Aslamyah, S., Karim, M. Y., Badraeni, & Tahya, A. M. (2018). Effect of fermented seaweed addition on blood glucose level, hepatosomatic index, and gastric evacuation rate of milkfish, *Chanos chanos* larvae. *AAFL Bioflux*, 11(1), 226–231.
- Ayson, F. G., de Jesus-Ayson, E. G. T., & Takemura, A. (2007). mRNA expression patterns for GH, PRL, SL, IGF-I and IGF-II during altered feeding status in rabbitfish, *Siganus guttatus*. *General and Comparative Endocrinology*, 150(2), 196–204. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2006.08.001>
- Ayson, F. G., & Takemura, A. (2006). Daily expression patterns for mRNAs of GH, PRL, SL, IGF-I and IGF-II in juvenile rabbitfish, *Siganus guttatus*, during 24-h light and dark cycles. *General and Comparative Endocrinology*, 149(3), 261–268. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2006.06.006>
- Babikian, J., Nasser, N., & Saoud, I. P. (2017). Effects of salinity on standard metabolic rate of juvenile marbled spinefoot (*Siganus rivulatus*). *Aquaculture Research*, 48(5), 2561–2566. <https://doi.org/10.1111/are.13092>
- 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>
- Bartoňková, J., Hyršl, P., & Vojtek, L. (2016). Glucose determination in fish plasma by two different moderate methods. *Acta Veterinaria Brno*, 85(4), 349–353. <https://doi.org/10.2754/avb201685040349>

- Bernfeld, P. (1955). Amylases, alpha and beta. *Methods in Enzymology I*, 1(540), 149–158.
- Bonvini, E., Bonaldo, A., Parma, L., Mandrioli, L., Sirri, R., Grandi, M., Fontanillas, R., Viroli, C., & Gatta, P. P. (2018). Feeding European sea bass with increasing dietary fibre levels: Impact on growth, blood biochemistry, gut histology, gut evacuation. *Aquaculture*, 494(February), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.05.017>
- Boonyaratpalin, M. (1997). Nutrient requirements of marine food fish cultured in Southeast Asia. *Aquaculture*, 151, 283–313.
- Chan, S. J., & Steiner, D. F. (1994). Structure and Expression of Insulinlike Growth Factor Genes in Fish. *Fish Physiology*, 13(C), 213–224. [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(08\)60068-0](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(08)60068-0)
- Del Piano, F., Lama, A., Piccolo, G., Addeo, N. F., Iaccarino, D., Fusco, G., Riccio, L., De Biase, D., Mattace Raso, G., Meli, R., & Ferrante, M. C. (2023). Impact of polystyrene microplastic exposure on gilthead seabream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758): Differential inflammatory and immune response between anterior and posterior intestine. *Science of the Total Environment*, 879(March), 163201. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163201>
- DJPB. (2020). Rencana strategis tahun 2020-2024. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Drew, M. D., Borgeson, T. L., & Thiessen, D. L. (2007). A review of processing of feed ingredients to enhance diet digestibility in finfish. *Animal Feed Science and Technology*, 138(2), 118–136. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.019>
- Endo, H., & Wu, H. (2019). Biosensors for the assessment of fish health: a review. *Fisheries Science*, 85(4), 641–654. <https://doi.org/10.1007/s12562-019-01318-y>
- Francis, G., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. In *Aquaculture* (Vol. 199, Issues 3–4). [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00526-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00526-9)
- González-Meza, G. M., Elizondo-Luevano, J. H., Cuellar-Bermudez, S. P., Sosa-Hernández, J. E., Iqbal, H. M. N., Melchor-Martínez, E. M., & Parra-Saldívar, R. (2023). New perspective for macroalgae-based animal feeding in the context of challenging sustainable food production. *Plants*, 12(20), 1–24. <https://doi.org/10.3390/plants12203609>
- Hack, N. L., Strobel, J. S., Journey, M. L., Beckman, B. R., & Lema, S. C. (2018). Response of the insulin-like growth factor-1 (Igf1) system to nutritional status and growth rate variation in olive rockfish (*Sebastes serranoides*). *Comparative Biochemistry and Physiology -Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 224, 42–52. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2018.05.025>
- Hemre, G. I., Mommsen, T. P., & Krogdahl, Å. (2002). Carbohydrates in fish nutrition: Effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. *Aquaculture Nutrition*, 8(3), 175–194. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2002.00200.x>
- Jaikumar, M. (2012). A review on biology and aquaculture potential of rabbitfish in Tamilnadu ( *Siganus canaliculatus*). *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 2(2), 57–64.
- Knoop, K. A., & Newberry, R. D. (2018). Goblet cells: multifaceted players in immunity

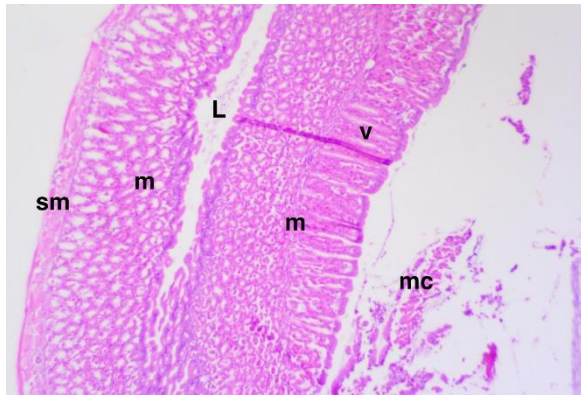
- at mucosal surfaces. *Mucosal Immunology*, 11(6), 1551–1557. <https://doi.org/10.1038/s41385-018-0039-y>
- Laining, A., Mulyaningrum, S., Tampangallo, B., & Usman. (2021). Growth, blood triglyceride, and hepatic PUFA-related and IGF-1 genes expression of cultured golden rabbitfish, *Siganus guttatus* fed various lipid sources. In M. Rimmer & V. Thépot (Eds.), *'Accelerating the development of finfish mariculture in Cambodia through south-south research cooperation with Indonesia'*. *Proceeding of the Online Symposium for ACIAR projects FIS/2016/130 and FIS/2018/115, 12-15 July 2021* (pp. 1–6).
- Latuconsina, H., Purbiantoro, W., & Padang, A. (2021). Feeding preference of white spotted rabbitfish (*Siganus canaliculatus*) on different species of Seagrass. *AACL Bioflux*, 14(6), 3242–3251.
- Lee, S.-M., Kim, K.-D., & Lall, S. P. (2003). Utilization of glucose, maltose, dextrin and cellulose by juvenile flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 221, 427–438. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00061-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00061-9)
- Li, P., Mai, K., Trushenski, J., & Wu, G. (2009). New developments in fish amino acid nutrition: Towards functional and environmentally oriented aquafeeds. *Amino Acids*, 37(1), 43–53. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0171-1>
- Liu, H., Zhu, X., Yang, Y., Han, D., Jin, J., & Xie, S. (2016). Effect of substitution of dietary fishmeal by soya bean meal on different sizes of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*): Nutrient digestibility, growth performance, body composition and morphometry. *Aquaculture Nutrition*, 22(1), 142–157. <https://doi.org/10.1111/anu.12239>
- Luong, T. C., Hochard, S., Royer, F., Lemonnier, H., & Letourneur, Y. (2014). Feasibility of polyculture of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* and goldlined rabbitfish *Siganus lineatus* in a mesocosm system. *Aquaculture*, 433(September), 340–347. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.06.014>
- Machado, M., Machado, S., Pimentel, F. B., Freitas, V., Alves, R. C., & Oliveira, M. B. P. P. (2020). Amino acid profile and protein quality assessment of macroalgae produced in an integrated multi-trophic aquaculture system. *Foods*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/foods9101382>
- Pacorrig, V., Galeotti, M., & Beraldo, P. (2022). Multiparametric semi-quantitative scoring system for the histological evaluation of marine fish larval and juvenile quality. *Aquaculture Reports*, 26(December 2021). <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101285>
- Paruntu, C. P., Darwisito, S., Rumengan, A. P., Wewengkang, D. S., & Rotinsulu, H. (2020). The Effects of Rabbitfish Existence in Polyculture System and Feed Type against the Growth Performance of Bigeye Trevally in Floating Net Cage. *Journal of Aquaculture Research & Development OPEN*, 11(2), 1–7. <https://doi.org/10.35248/2155-9546.19.10.581>
- 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>
- Pereira, R., Valente, L. M. P., Sousa-Pinto, I., & Rema, P. (2012). Apparent nutrient digestibility of seaweeds by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Nile tilapia

- (*Oreochromis niloticus*). *Algal Research*, 1(1), 77–82.  
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2012.04.002>
- Rao, X., Huang, X., Zhou, Z., & Lin, X. (2013). An improvement of the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis. *Biostatistics, Bioinformatics and Biomathematics*, 3(3), 71–85.
- 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>
- Seale, A. P., & Ellis, S. (2019). *Sustainable Capture-Based Aquaculture of Rabbitfish in Pacific Island Lagoons*. July, 1–9.
- Silva, W. S., Costa, L. S., López-Olmeda, J. F., Costa, N. C. S., Santos, W. M., Ribeiro, P. A. P., & Luz, R. K. (2019). Gene expression, enzyme activity and performance of Nile tilapia larvae fed with diets of different CP levels. *Animal*, 13(7), 1376–1384.  
<https://doi.org/10.1017/S175173111800318X>
- Syah, R., Makmur, Tampangallo, B. R., Undu, M. C., Asaad, A. I. J., & Laining, A. (2020). Rabbitfish (*Siganus guttatus*) culture in floating net cage with different stocking densities. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 564(1), 1–14.  
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/564/1/012022>
- Takeuchi, T. (1988). Laboratory work-chemical evaluation of dietary nutrients. In *Fish Nutrition and Mariculture. T. Watanabe (Ed.). Departement of Aquatic Bioscience, Tokyo University of Fisheries. JICA* (p. 233).
- Tomičić, Z. M., Pezo, L. L., Spasevski, N. J., Lazarević, J. M., Čabarkapa, I. S., & Tomičić, R. M. (2022). Diversity of amino acids composition in cereals. *Food and Feed Research*, 49(1), 11–22. <https://doi.org/10.5937/ffr49-34322>
- Tresnati, J., Bestari, A. D., Azis, H. Y., Fujaya, Y., Aslamyah, S., Yasir, I., & Tuwo, A. (2021). Effect of salinity on the growth and feed conversion of rabbitfish, *Siganus canaliculatus* (Park, 1797), fed with seaweed (*Gracilaria changii*). *AAFL Bioflux*, 14(4), 2615–2625.
- Ul Hassan, H., Ali, Q. M., Ahmad, N., Masood, Z., Hossain, M. Y., Gabol, K., Khan, W., Hussain, M., Ali, A., Attaullah, M., & Kamal, M. (2021). Assessment of growth characteristics, the survival rate and body composition of Asian sea bass *Lates calcarifer* (Bloch, 1790) under different feeding rates in closed aquaculture system. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(2), 1324–1330.  
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.056>
- Valente, L. M P, Gouveia, A., Rema, P., Matos, J., Gomes, E. F., & Pinto, I. S. (2006). Evaluation of three seaweeds *Gracilaria bursa-pastoris*, *Ulva rigida* and *Gracilaria cornea* as dietary ingredients in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*, 252(1), 85–91.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.11.052>
- Valente, Luisa 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 phytogenic 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>

- Vazirzadeh, A., Marhamati, A., & Chisti, Y. (2022). Seaweed-based diets lead to normal growth, improved fillet color but a down-regulated expression of somatotrophic axis genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 554(March), 738183. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738183>
- Xie, D., Xu, S., Wang, S., You, C., & Li, Y. (2016). Cloning, tissue expression, and nutritional regulation of the  $\alpha$ -amylase gene in the herbivorous marine teleost *Siganus canaliculatus*. *Aquaculture*, 454, 229–236. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.12.031>
- 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>
- Xuan, X., Wen, X., Li, S., Zhu, D., & Li, Y. (2013). Potential use of macro-algae *Gracilaria lemaneiformis* in diets for the black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*, juvenile. *Aquaculture*, 412–413, 167–172. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.07.022>
- Younis, E. S. M., Al-Quffail, A. S., Al-Asgah, N. A., Abdel-Warith, A. W. A., & Al-Hafedh, Y. S. (2018). Effect of dietary fish meal replacement by red algae, *Gracilaria arcuata*, on growth performance and body composition of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(2), 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.06.012>

Lampiran 4.1. Hasil analisis histologi usus anterior

Sampel G0 usus anterior



G0.1, skor 1 : tidak ada perubahan



G0.2, skor 1 : tidak ada perubahan



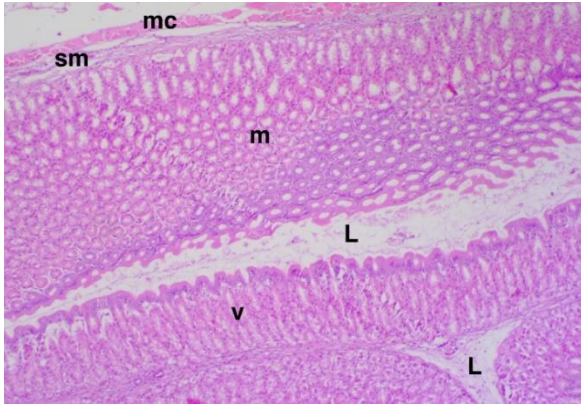
G0.3, skor 1 : tidak ada perubahan

**KETERANGAN**

L : lamina propia  
V : vili  
M : mucosa

SM : sub mucosa  
MC : muscularis

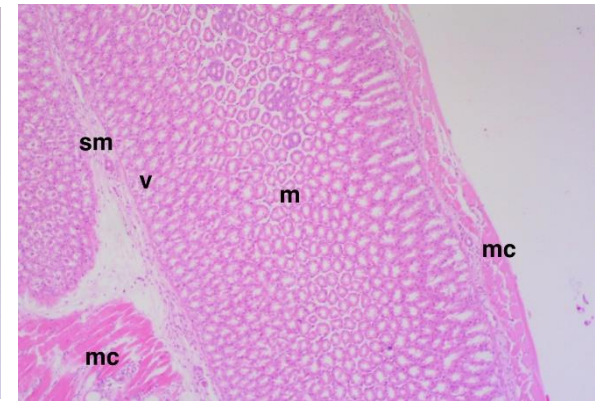
Sampel G20 usus anterior



G20.1, skor 1 : tidak ada perubahan



G20.2, skor 1 : tidak ada perubahan



G20.3, skor 1 : tidak ada perubahan

### KETERANGAN

L : lamina propia  
V : vili  
M : mucosa

SM : sub mucosa  
MC : muscularis

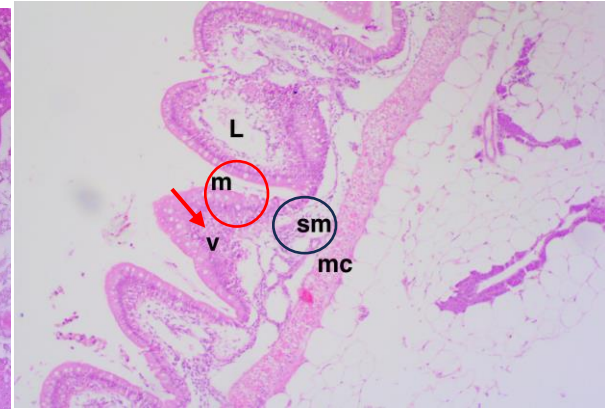
Sampel G25 usus anterior



G25.1, skor 3 : kerusakan sedang. Terlihat necrotik pada bagian mucosa (m) (lingkaran merah) pada bagian vili (v) 50% (tanda panah merah) dan kebengkakan pada submucosa (sm) (lingkaran hitam)



G25.2, skor 3 : kerusakan sedang. Terlihat necrotik pada bagian mucosa (m) (lingkaran merah) pada bagian vili (v) 50% (tanda panah merah) dan kebengkakan pada submucosa (sm) (lingkaran hitam)



G25.3, Skor 3 : kerusakan sedang. Terlihat necrotik pada bagian mucosa (m) (lingkaran merah) pada bagian vili (v) 50% (tanda panah merah) dan kebengkakan pada submucosa (sm) (lingkaran hitam)

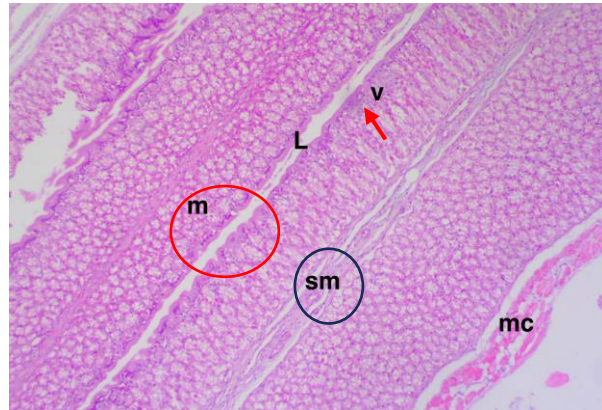
**KETERANGAN**

L : lamina propia  
V : vili  
M : mucosa

SM : sub mucosa  
MC : muscularis



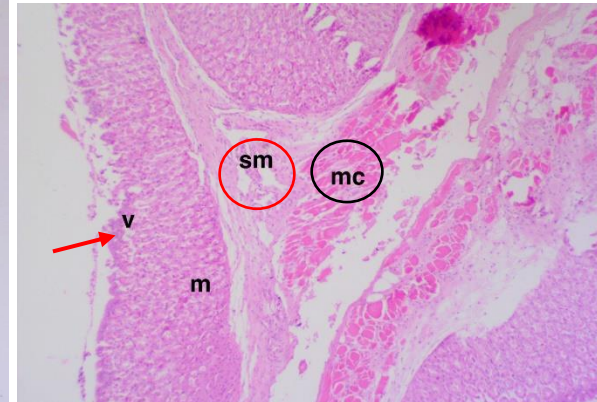
Sampel G30 usus anterior



G30.1, Skor 3 : kerusakan sedang. Terlihat necrotik pada bagian mucosa (m) (lingkaran merah) pada bagian vili (v) 50% (tanda panah merah) dan kebengkakan pada submucosa (sm) (lingkaran hitam)



G30.2, Skor 3 : kerusakan sedang. Terlihat necrotik pada bagian mucosa (m) (lingkaran merah) pada bagian vili (v) 50% (tanda panah merah) dan kebengkakan pada submucosa (sm) (lingkaran hitam)



G30.3, Skor 4 : kerusakan berat. Necrotik > 75% pada bagian vili (v) (tanda panah merah), submucosa (sm) (lingkaran merah) dan muscularis (mc) (lingkaran hitam)

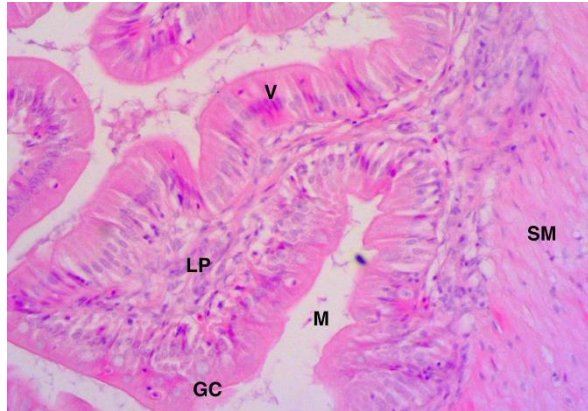
**KETERANGAN**

L : lamina propia  
 V : vili  
 M : mucosa

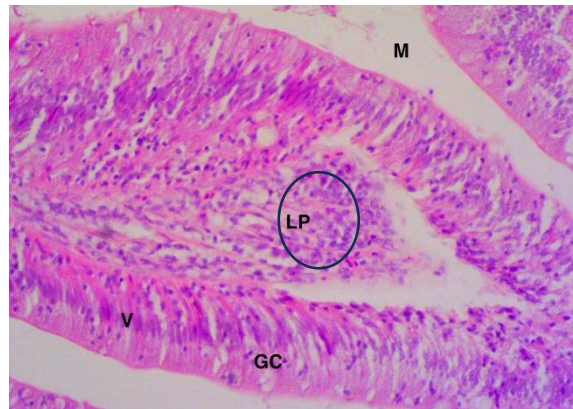
SM : sub mucosa  
 MC : muscularis

Lampiran 4.2. Hasil analisa histologi usus tengah

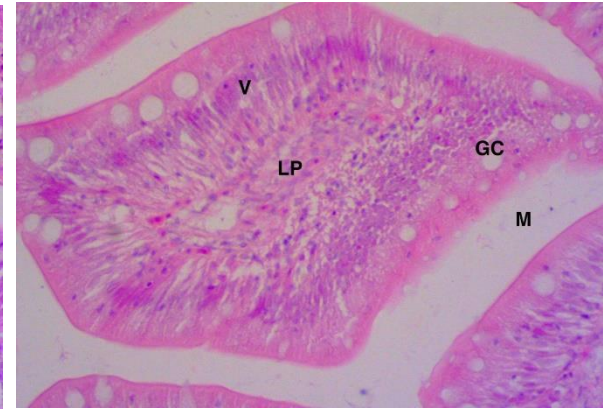
Sampel G0 Usus tengah



G0.1, skor 1 : tidak ada perubahan



G0.2, skor 2 : kerusakan minimal. edema lamina propia (LP) (lingkaran hitam)



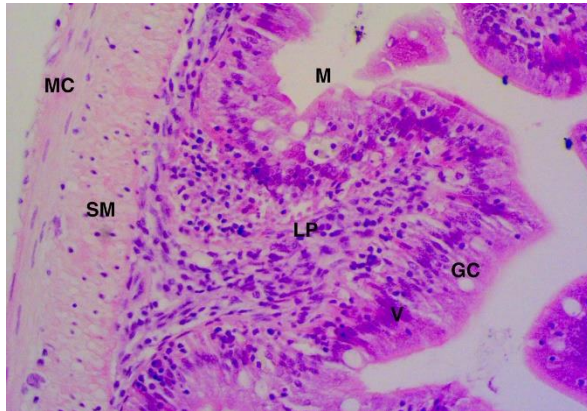
G0.3, skor 1 : tidak ada perubahan

**KETERANGAN**

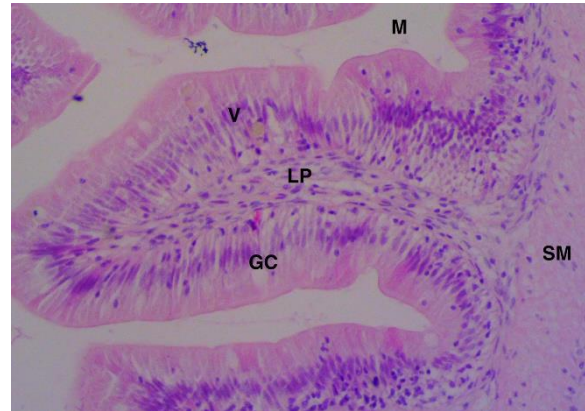
LP : lamina propia  
GC : goblet sel  
V : vili

M : mucosa  
SM : sub mucosa  
MC : muscularis

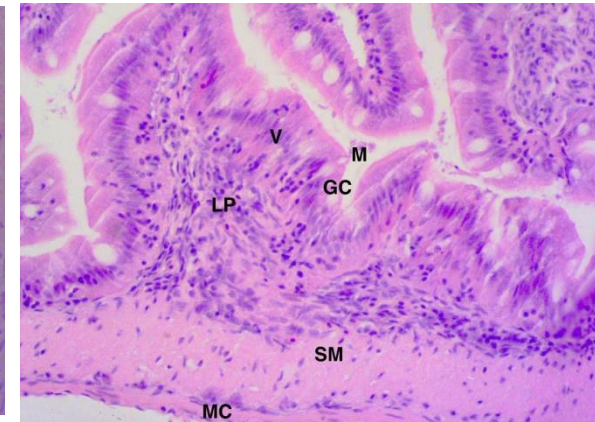
Sampel G20 Usus tengah



G20.1, skor 1 : tidak ada perubahan



G20.2, skor 1 : tidak ada perubahan

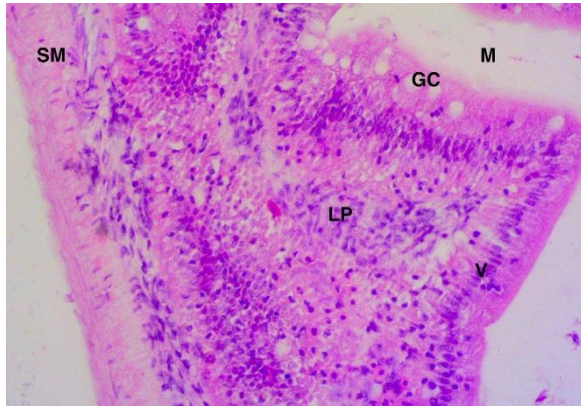


G20.3, skor 1 : tidak ada perubahan

**KETERANGAN**

- |    |                 |    |              |
|----|-----------------|----|--------------|
| LP | : lamina propia | M  | : mucosa     |
| GC | : goblet sel    | SM | : sub mucosa |
| V  | : vili          | MC | : muscularis |

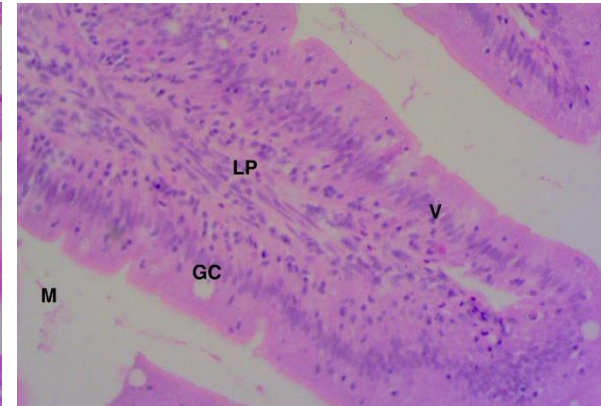
Sampel G25 Usus tengah



G25.1, skor 1 : tidak ada perubahan



G25.2, skor 1 : tidak ada perubahan

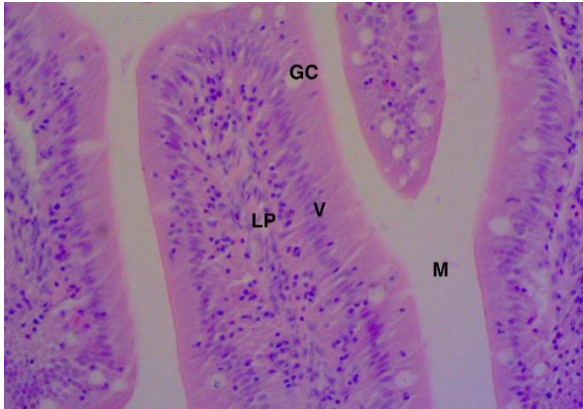


G25.3, skor 1 : tidak ada perubahan

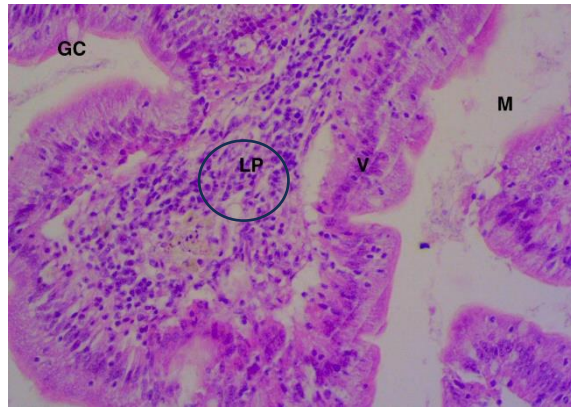
**KETERANGAN**

- |    |                 |    |              |
|----|-----------------|----|--------------|
| LP | : lamina propia | M  | : mucosa     |
| GC | : goblet sel    | SM | : sub mucosa |
| V  | : vili          | MC | : muscularis |

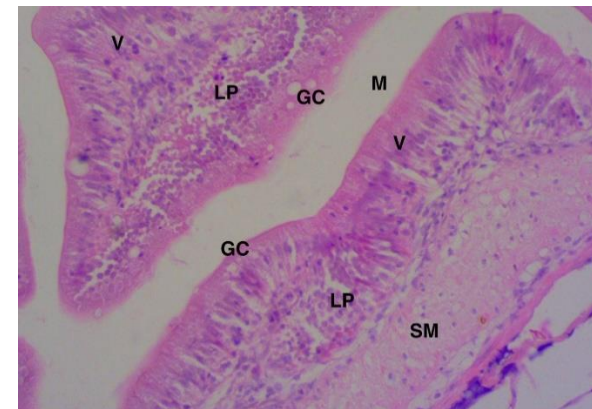
Sampel G30 Usus tengah



G30.1, skor 1 : tidak ada perubahan



G30.2, skor 2 : kerusakan sangat rendah (minimal), edema lamina propia (lingkaran hitam)



G30.3, skor 1 : tidak ada perubahan

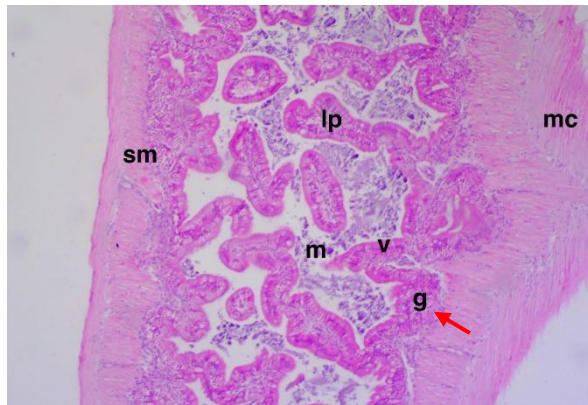
**KETERANGAN**

LP : lamina propia  
GC : goblet sel  
V : vili

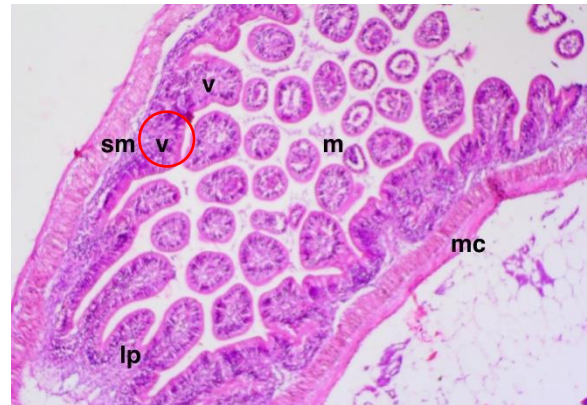
M : mucosa  
SM : sub mucosa  
MC : muscularis

Lampiran 4.3. Hasil analisis histologi usus bagian posterior

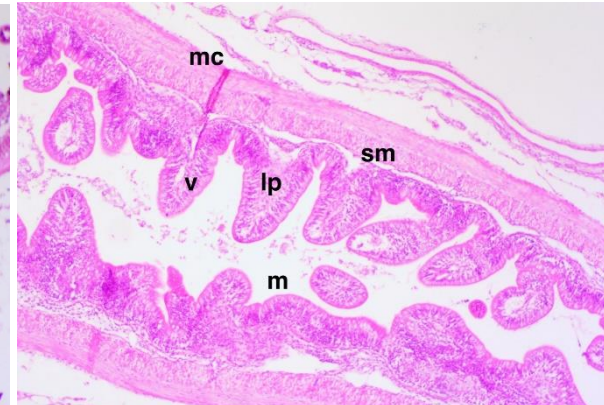
Sampel G0 Usus Posterior



G0.1, skor 2: kerusakan ringan. sel goblet (g) hiperplasia (tanda panah merah)



G0.2, skor 2: kerusakan ringan. sel vili (v) hiperplasia (lingkaran merah)

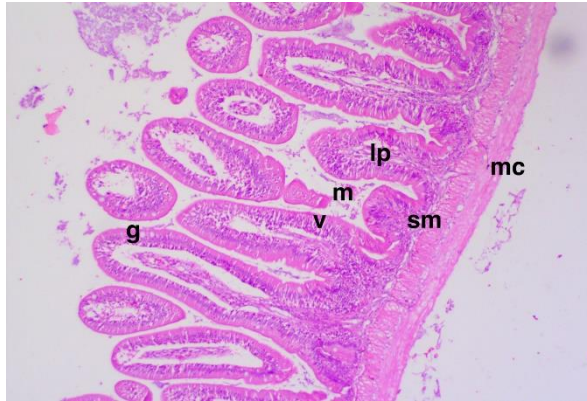


G0.3, skor 1: tidak ada perubahan

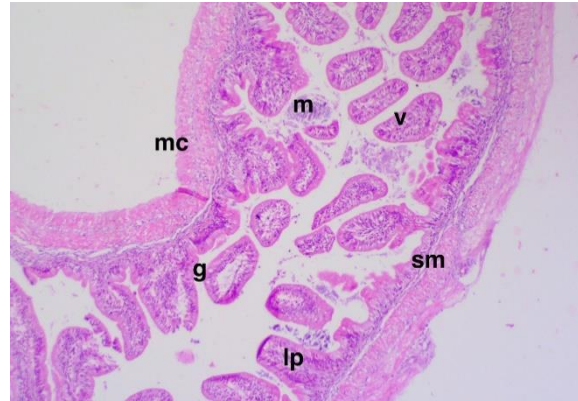
**KETERANGAN**

LP	: lamina propia	M	: mucosa
G	: goblet sel	SM	: sub mucosa
V	: vili	MC	: muscularis

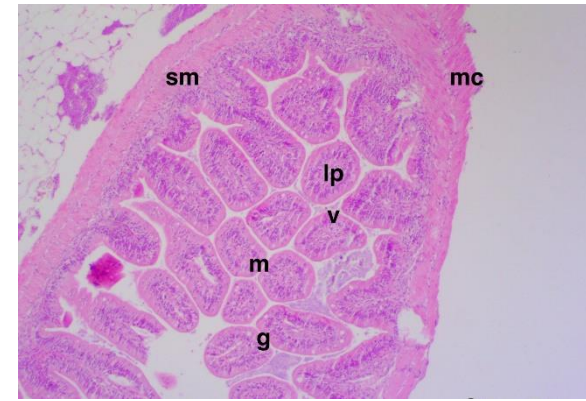
Sampel G20 Usus Posterior



G20.1, skor 1 : tidak ada perubahan



G20.2, skor 1 : tidak ada perubahan



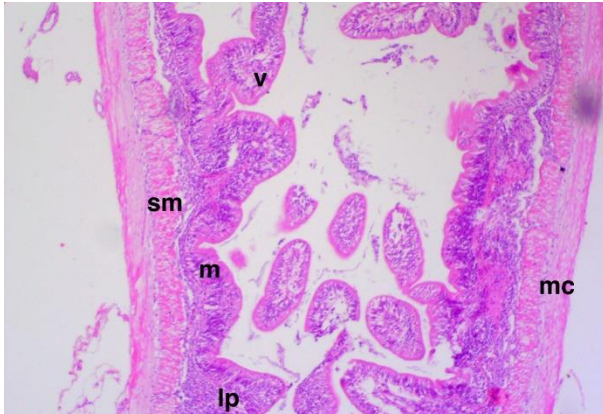
G20.3, skor 1 : tidak ada perubahan

**KETERANGAN**

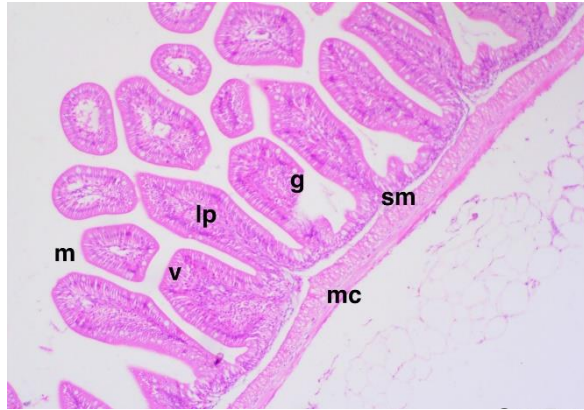
LP : lamina propia  
G : goblet sel  
V : vili

M : mucosa  
SM : sub mucosa  
MC : muscularis

Sampel G25 Usus Posterior



G25.1, skor 1 : tidak ada perubahan



G25.2, skor 1 : tidak ada perubahan



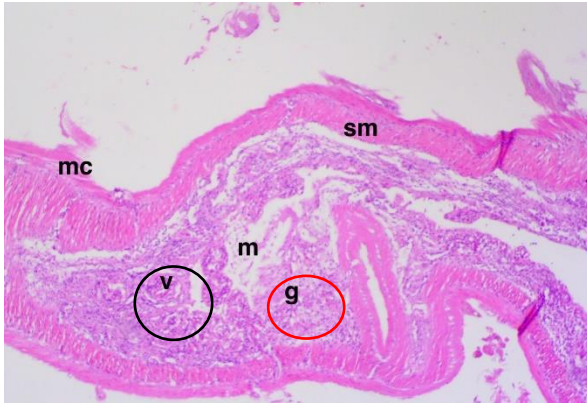
G25.3, skor 2 : kerusakan ringan. sel vili (v) hiperplasia (tanda panah merah)

**KETERANGAN**

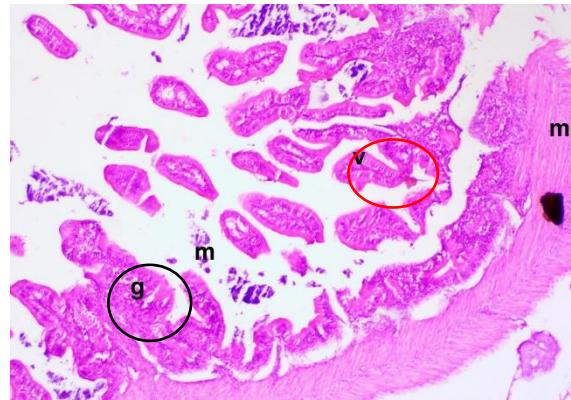
LP	: lamina propia	M	: mucosa
G	: goblet sel	SM	: sub mucosa
V	: vili	MC	: muscularis



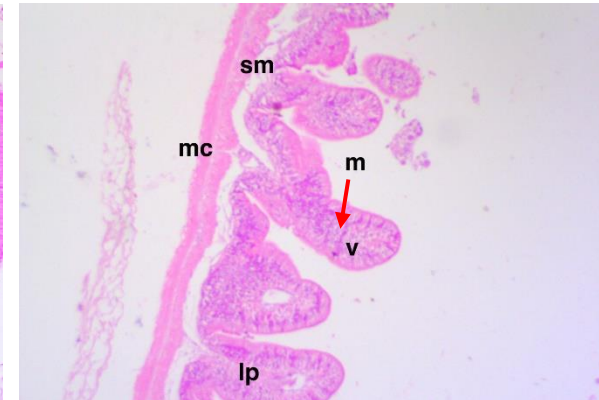
Sampel G30 Usus Posterior



G30.1, skor 3 : kerusakan sedang. sel goblet (g) (lingkaran merah) sel vili hiperplasia >50% dan necrotik (lingkaran hitam)



G30.2, skor 3 : kerusakan sedang. sel goblet (g) (lingkaran hitam) sel vili hiperplasia >50% dan necrotik (lingkaran merah)



G30.3, skor 2 : kerusakan ringan. sel vili (v) hiperplasia (tanda panah merah)

**KETERANGAN**

- |    |                 |    |              |
|----|-----------------|----|--------------|
| LP | : lamina propia | M  | : mucosa     |
| G  | : goblet sel    | SM | : sub mucosa |
| V  | : vili          | MC | : muscularis |

Lampiran 4.4. Resume response biologi ikan baronang emas, *S. guttatus* terhadap dosis *G. verrucosa* fermentasi

No.	Peubah	Perlakuan			
		G0	G20	G25	G30
1	Kecernaan				
	- Bahan kering (%)	64,39±2,68 <sup>a</sup>	50,21±11,43 <sup>a</sup>	38,63±5,24 <sup>a</sup>	39,29±6,45 <sup>a</sup>
	- Protein (%)	75,82±1,16 <sup>a</sup>	71,52±5,40 <sup>a</sup>	66,38±1,37 <sup>a</sup>	71,23±5,33 <sup>a</sup>
	- Lemak (%)	87,94±1,11 <sup>a</sup>	92,14±1,98 <sup>a</sup>	91,77±0,63 <sup>a</sup>	91,56±0,28 <sup>a</sup>
2	Aktivitas enzim amilase (unit/mL)	0,62±0,11 <sup>a</sup>	0,56±0,19 <sup>a</sup>	0,62±0,12 <sup>a</sup>	0,72±0,11 <sup>a</sup>
3	Ekspresi mRNA α-amilase (kali)		1,24±0,53 <sup>a</sup>	1,55±0,41 <sup>a</sup>	0,84±0,38 <sup>a</sup>
4	Ekspresi mRNA IGF-1 (kali)		1,24±0,27 <sup>ab</sup>	2,17±0,20 <sup>a</sup>	0,36±0,09 <sup>b</sup>
5	Skor histologi usus				
	- Anterior	1,00±0,00 <sup>b</sup>	1,00±0,00 <sup>b</sup>	3,00±1,15 <sup>a</sup>	3,33±0,58 <sup>a</sup>
	- Tengah	1,33±0,00 <sup>a</sup>	1,00±0,00 <sup>a</sup>	1,00±0,00 <sup>a</sup>	1,33±0,58 <sup>a</sup>
	- Posterior	1,00±0,00 <sup>b</sup>	1,00±0,00 <sup>b</sup>	3,00±1,15 <sup>a</sup>	3,33±0,58 <sup>a</sup>
6	SGR (%/hari)	1,01±0,06 <sup>bc</sup>	1,31±0,00 <sup>ab</sup>	1,32±0,14 <sup>a</sup>	0,95±0,17 <sup>c</sup>
7	FCR (%)	2,47±0,23 <sup>ab</sup>	1,81±0,02 <sup>ab</sup>	1,74±0,21 <sup>a</sup>	2,58±0,50 <sup>b</sup>
8	FE (%)	40,69±3,75 <sup>bc</sup>	55,20±0,72 <sup>ab</sup>	58,09±6,93 <sup>a</sup>	38,32±10,11 <sup>c</sup>
9	SR (%)	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	97,78±3,85 <sup>a</sup>
10	Pemanfaatan glukosa (jam)	6	3	6	6
11	Indeks hepatosomatik	1,13±0,17 <sup>a</sup>	1,08±0,16 <sup>a</sup>	1,02±0,34 <sup>a</sup>	0,99±0,11 <sup>a</sup>
12	Proksimat karkas				
	- Protein (%)	60,53	66,34	70,72	72,96
	- Lemak (%)	19,65	16,06	15,95	13,52
	- Serat kasar (%)	0,43	0,54	0,35	0,46
	- Kadar abu (%)	10,59	12,37	10,86	11,63
13	Asam amino karkas				
	- Asam amino esensial	23,78	25,76	29,52	28,23
	- Asam amino non esensial	33,99	37,33	38,70	43,89
	- Total asam amino	57,76	63,08	68,23	72,80

## BAB V

### PEMBAHASAN UMUM

Berkembangnya sektor perikanan budidaya di satu sisi mempengaruhi peningkatan kebutuhan pakan. Beberapa faktor yang menjadi pertimbangan dalam penentuan bahan baku pakan adalah ketersediaan bahan baku yang berkelanjutan dan komponen yang terkandung pada bahan baku tersebut. Salah satu bahan baku pakan untuk ikan herbivora seperti ikan baronang emas, *S. guttatus* yang memiliki potensi untuk dikembangkan adalah rumput laut. Pertimbangan pemilihan rumput laut sebagai bahan baku pakan adalah keberadaannya sebagai komponen rantai makanan akuatik. Dimana ikan herbivora lebih mudah beradaptasi dengan pakan berbahan baku tumbuhan air. Selain itu rumput laut memiliki kandungan nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan ikan, meskipun kandungan nutrisinya sangat beragam tergantung spesiesnya.

Ikan baronang emas, *S. guttatus* sebagai spesies herbivora memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai komoditas budidaya, karena memiliki nilai ekonomis tinggi, dan budidayanya yang dapat dilakukan dengan kepadatan tinggi. Berkembangnya budidaya memiliki dampak pada kebutuhan pakan, dimana biaya pakan dalam usaha budidaya mencapai lebih dari 50%. Selain itu pakan komersil untuk ikan baronang sendiri belum banyak dikembangkan di Indonesia, sehingga perlu adanya formulasi pakan yang sesuai dengan kebutuhan nutrisi ikan baronang.

Tantangan dalam pemanfaatan rumput laut sebagai bahan baku pakan ikan adalah kandungan NSP nya yang tinggi. NSP sendiri merupakan zat anti nutrisi yang secara umum tidak dapat dicerna oleh ikan. Untuk itu *pre-treatment* dengan proses fermentasi diperlukan untuk meningkatkan kualitas rumput laut sebagai bahan baku pakan. Fermentasi merupakan proses perombakan senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan bantuan mikroorganisme. Untuk menurunkan kandungan NSP rumput laut diperlukan bakteri selulolitik.

Pada proses isolasi, karakterisasi, seleksi dan identifikasi bakteri dari limbah padat olahan rumput laut diperoleh 15 isolat bakteri yang semuanya bersifat Gram-negatif dengan indeks selulolitik yang masuk kategori menengah.

Dari 15 isolat yang diperoleh kemudian dipilih 9 isolat dengan indeks selulolitik tertinggi untuk pengujian selanjutnya. Sembilan isolat yang terpilih cenderung memiliki fase pertumbuhan yang sama. Fase eksponensial terjadi pada 24-72 jam, pada fase ini sel mulai membelah hingga mencapai populasi maksimum. Pengamatan pertumbuhan bakteri dilakukan untuk mengetahui saat yang tepat dalam memanfaatkan bakteri, yakni pada fase pertumbuhan eksponensial.

Sembilan isolat yang diuji patogenitasnya terdapat 1 isolat (ISO8) yang memberikan gejala klinis pada ikan baronang, sehingga isolate tersebut tidak digunakan pada pengujian selanjutnya. Terdapat dua isolate yang terindikasi menimbulkan stress pada ikan yakni ISO3 dan ISO9. Indikasi stress pada ikan ditandai dengan jumlah sel darah merah yang lebih tinggi dari jumlah yang normal berdasarkan literatur. Dari hasil identifikasi bakteri kedua isolate tersebut adalah bakteri yang sama yakni *P. aeruginosa*. Dengan demikian kedua isolate ini juga tidak digunakan dalam pengujian berikutnya. Meskipun demikian kelangsungan hidup ikan mencapai 100% pada semua perlakuan. Bakteri *P. stutzeri* (ISO2) dipilih sebagai fermenter untuk fermentasi rumput laut karena memiliki indeks selulolitik dan aktivitas enzim selulase tertinggi, namun tidak bersifat patogen bagi ikan baronang.

Kondisi pH media pertumbuhan bakteri merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan bakteri *P. stutzeri* terbaik diperoleh pada pH media 8. Hal ini juga berhubungan dengan kondisi media asal dari bakteri yakni limbah padat dari industri agar, dimana pada proses pembuatan agar digunakan basa pada proses ekstraksi agar rumput laut. Dengan proses tersebut diduga limbah padat yang dihasilkan bersifat basa, sehingga bakteri yang hidup di dalamnya terbiasa dengan kondisi basa. Waktu fermentasi 4 hari menghasilkan aktivitas enzim selulase dan kandungan gula pereduksi tertinggi serta kandungan serat terendah. Fermentasi selama 4 hari mampu menurunkan kandungan serat rumput laut *G. verrucosa* sebesar 48,63%. Kandungan nutrisi lain seperti protein dan lemak tidak berpengaruh nyata antar perlakuan ( $P > 0,05$ ), menunjukkan bahwa bakteri *P. stutzeri* hanya bekerja pada substrat serat.

Pengujian interaksi komponen *Gracilaria* dengan inokulum bakteri *P. stutzeri* menunjukkan bahwa kedua faktor tersebut memiliki interaksi dalam mempengaruhi performa aktivitas enzim selulolitik bakteri *P. stutzeri* (ISO2) dalam mendegradasi serat rumput laut. Rasio substrat *Gracilaria* : inokulum *P. stutzeri* G:P (150:10) menghasilkan aktivitas enzim selulolitik tertinggi.

Kandungan iNSP yang paling mudah mengalami degradasi oleh bakteri *P. stutzeri* adalah hemiselulosa. Struktur selulosa dan lignin yang kompleks mengakibatkan kedua iNSP tersebut mengalami degradasi lebih kecil dibandingkan selulosa. Proses fermentasi yang dilakukan pada pH 8 juga mempermudah proses degradasi hemiselulosa, dimana ikatan ester antar dinding sel rumput laut mudah dipecahkan pada kondisi basa. Komponen yang mendominasi pada rumput laut *Gracilaria* fermentasi maupun non fermentasi adalah karbohidrat, yang ditandai dengan adanya serapan pada 3533.71-3439.19  $\text{cm}^{-1}$  (UFG) dan 3529.85-3425.69  $\text{cm}^{-1}$  (FG) yang diikuti oleh adanya puncak-puncak pada 1554.68-1247.99 (UFG)  $\text{cm}^{-1}$  dan 1543.10-1251.84 (FG) pada spektra FTIR. Spectra IR diatas 3000  $\text{cm}^{-1}$  berkaitan dengan vibrasi ikatan O-H. Proses fermentasi menghasilkan spektra FTIR gugus fungsi keton (1836.29  $\text{cm}^{-1}$ ) dan aldehid (1737.92  $\text{cm}^{-1}$ ) yang merupakan gugus fungsi senyawa karbonil gula pereduksi. Selain perubahan kimiawi, fermentasi juga mengakibatkan perubahan struktur dinding sel rumput laut *G. verrucosa*. Dari gambaran hasil foto SEM, menunjukkan bahwa fermentasi mengakibatkan struktur permukaan dinding sel rumput laut terlihat retak-retak yang menunjukkan adanya proses degradasi dinding sel.

Formulasi pakan dengan kandungan *G. verrucosa* fermentasi 20%, 25% dan 30% dan kontrol memiliki tingkat pencernaan bahan kering, protein dan lemak yang tidak berbeda ( $P>0,05$ ). Aktivitas dan ekspresi mRNA  $\alpha$ -amilase juga tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) meskipun ada peningkatan pada ekspresi mRNA  $\alpha$ -amilase. Dosis rumput laut sebesar 20-25% memberikan peningkatan ekspresi mRNA IGF-1, namun pada pemberian yang lebih besar (30%) mengakibatkan penurunan ekspresi mRNA IGF-1.

Dosis *G. verrucosa* sebesar 20% dan 25% menghasilkan pertumbuhan terbaik, FCR terendah, efisiensi pakan tertinggi dan kelangsungan hidup 100%. Dosis tepung *G. verrucosa* sebesar 20% tidak mengakibatkan perubahan morfologi usus ikan, selain itu pakan juga dapat dimanfaatkan secara efisien sebagai sumber energi oleh ikan baronang, terbukti dengan pemanfaatan glukosa yang lebih cepat dari perlakuan lain. Pemberian tepung *G. verrucosa* fermentasi tidak mempengaruhi indeks hepatosomatik, Kandungan protein karkas ikan baronang semakin meningkat dengan meningkatnya kandungan dosis *G. verrucosa*, yakni pada kisaran 60,53-72,96%. Kandungan lemak mengalami penurunan seiring dengan peningkatan dosis *G. verrucosa*, berada pada kisaran

13,52-19,65%. Serat kasar dan kadar abu masing-masing berada pada kisaran 0,35-0,53% dan 10,59-12,37%. Kandungan asam amino meningkat seiring dengan peningkatan dosis rumput laut. Hal ini mengindikasikan bahwa ikan baronang mampu memanfaatkan asam amino dari rumput laut *Gracilaria* dengan baik. Kualitas air selama penelitian berlangsung masih pada batas normal dan kondusif untuk pemeliharaan ikan baronang.

## BAB VI

### KESIMPULAN dan REKOMENDASI

#### Kesimpulan

1. Bakteri *P. stutzeri* memiliki daya selulolitik dan aktivitas enzim selulolitik tinggi, tidak bersifat patogen bagi ikan baronang dan berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai fermenter pada proses fermentasi rumput laut *G. verrucosa* sebagai bahan baku pakan ikan baronang emas, *S. guttatus*.
2. Pertumbuhan bakteri *P. stutzeri* terbaik pada media dengan pH 8, kandungan serat *G. verrucosa* mengalami penurunan yang signifikan pada waktu fermentasi 4 hari dan rasio G:P (150 g:10%). Hemiselulosa merupakan iNSP *G. verrucosa* yang lebih mudah didegradasi dibanding selulosa dan lignin, fermentasi juga mengakibatkan adanya perubahan kimiawi dan fisik rumput laut *G. verrucosa*.
3. Dosis optimum tepung *G. verrucosa* fermentasi untuk pertumbuhan ikan baronang adalah berkisar 20-25%. Pada dosis tersebut terjadi peningkatan ekspresi gen IGF-1 dan tidak mengakibatkan perubahan morfologi yang berarti pada usus. Penggunaan rumput laut *G. verrucosa* fermentasi dalam formulasi pakan juga dapat meningkatkan kandungan asam amino pada karkas ikan baronang.

## Rekomendasi

1. Fermenter dari hasil penelitian ini dapat dikembangkan menjadi suatu produk yang mudah diaplikasikan untuk meningkatkan kualitas bahan baku pakan dengan menurunkan kandungan serat yang merupakan bahan anti nutrisi
2. Peningkatan kualitas rumput laut *G. verrucosa* sebagai bahan baku pakan, dengan pemanfaatan bakteri *P. stutzeri* perlu dikombinasi dengan mikroorganisme lain dengan proses fermentasi sekuens untuk meningkatkan kandungan protein dan menurunkan kandungan NSP rumput laut.
3. Pemanfaatan rumput laut sebagai bahan baku pakan ikan diarahkan untuk mendukung pengembangan budidaya ikan baronang di daerah pesisir dengan penyediaan pakan secara mandiri. Selain itu juga dapat mendukung program ketahanan pangan dengan peningkatan nilai gizi karkas ikan.
4. Limbah padat hasil olahan rumput laut yang masih banyak mengandung selulosa dapat dimanfaatkan sebagai alternatif bahan baku pakan karena terdapat bakteri selulolitik sebagai fermenter. Hal ini memiliki implikasi pada industri akuakultur dan lingkungan, sirkular ekonomi dan pengembangan IPTEK.